

# ANNALES

## DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

### POUVOIR PRÉMUNISANT ANTITUBERCULEUX DES BACILLES TUBERCULEUX A COLONIES LISSES,

par L. NÈGRE, J. VALTIS et J. BRETEY.

Nous avons, à plusieurs reprises, avec F. van Deinse, ainsi qu'avec J. Beerens [1], signalé qu'on peut, par ensemencement sur le milieu de Löwenstein des lésions de cobayes inoculés avec des produits tuberculeux ou suspects de tuberculose et traités pendant environ deux mois par des injections sous-cutanées bi-hebdomadaires de 1 cent. cube d'extrait acétonique de bacilles de Koch, isoler soit des bacilles à colonies rugueuses pathogènes pour le cobaye, soit des bacilles acidorésistants à colonies lisses, alors que les cobayes témoins inoculés avec le même produit et non traités, conservés pendant plusieurs mois, ne présentent aucune lésion.

Avec J. Valtis et A. Bonnefoi [2], puis avec J. Bretey [3], l'un de nous a montré qu'il est possible, par inoculation préalable de ces bacilles au cobaye et au lapin, de donner à ces animaux une résistance marquée à une infection tuberculeuse d'épreuve.

A. Saenz, L. Costil et M. Sadettin [4] ont également obtenu, mais plus rarement, par ensemencement des ganglions et des organes sans lésions de cobayes neufs traités par des injections de produits divers (tuberculine, extrait acétonique de

bacilles de Koch), des bacilles à colonies lisses dont ils ont décrit les caractères immunologiques.

Les souches de bacilles à colonies lisses que nous avons étudiées se développent à 38°, poussent dans la profondeur du milieu synthétique de Sauton avec développement d'un voile fin à sa surface, acidifient ce milieu et sensibilisent le cobaye à la tuberculine. Elles sont peu virulentes pour le cobaye et paraissent ne se distinguer les unes des autres que par les propriétés pathogènes qu'elles présentent pour le lapin et pour la poule au moment de leur isolement, et qu'elles perdent au cours de leur réensemencement sur les milieux de culture.

Chez le cobaye, après inoculation de 5 à 10 milligrammes sous la peau de la cuisse, elles ne déterminent, en général, l'apparition que de lésions ganglionnaires inguinales et sous-lombaires avec abcès intramusculaires.

Dans un seul cas l'un de nous a pu, avec J. Valtis et Guy Laroche [5], observer qu'une souche lisse isolée des urines d'un malade atteint de néphrite hématurique (souche Béc.) a fait retour à la variété rugueuse virulente pour le cobaye. Mais Max Pinner [6] a plusieurs fois obtenu cette transformation.

Les plus virulentes tuent le lapin et la poule après inoculation de 0 milligr. 01 en une trentaine de jours avec des phénomènes congestifs très prononcés et parfois de fines granulations sur les organes toujours fortement hyperémiés. L'inoculation de ces souches, dans les mêmes conditions, mais après un certain nombre de réensemencements, ne provoque plus, de même que celle des souches d'emblée peu virulentes, qu'une congestion passagère des organes avec présence d'assez nombreux bacilles. A l'autopsie des lapins sacrifiés deux mois après leur inoculation, on trouve souvent de nombreuses cicatrices sur la rate.

Chez le cobaye, malgré le pouvoir pathogène plus faible de ces bacilles pour cet animal (tout au moins après inoculation par voie sous-cutanée), on peut observer, après introduction de fortes doses sous la peau, des phénomènes congestifs semblables à ceux décrits chez le lapin et la poule, quoique moins prononcés. La rate est souvent congestionnée et hypertrophiée.

Après inoculation sous-cutanée au cobaye de 10 milligrammes d'une de ces souches, les bacilles peuvent persister



pendant plus d'un an dans les ganglions et les organes de cet animal. Leur ensemencement sur le milieu de Löwenstein a donné, au bout de ce délai, une culture de bacilles à colonies lisses ayant les mêmes caractères que ceux qui avaient été inoculés.

Les lésions histologiques (1) produites chez le cobaye et chez le lapin par inoculation de ces bacilles, quoique assez nombreuses, sont représentées surtout par des îlots épithélioïdes avec cellules géantes disséminées et par des îlots lymphocytaires sans qu'on retrouve, en général, la disposition classique du follicule. Ces lésions régressent par la suite.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'action prémunisante de ces bacilles vis-à-vis d'une infection tuberculeuse d'épreuve à cause de leur pouvoir de dispersion, de la durée de leur persistance dans l'organisme et des lésions bénignes qu'elles déterminent chez le cobaye et le lapin, soit d'emblée dès leur premier isolement, soit après un certain nombre de réensemencements sur les milieux artificiels.

### Pouvoir prémunisant de la souche Béc.

Nous avons, dans un mémoire antérieur (Ces *Annales*, 51, novembre 1933, p. 591), décrit les principaux caractères biologiques de cette souche de bacilles tuberculeux dont les colonies se sont présentées sous la forme lisse et sous la forme rugueuse.

D'après les dosages effectués peu après son isolement par A. Bonnefoi, dans le laboratoire de M. Machebœuf, que nous tenons à remercier, les bacilles des colonies lisses se différencient de ceux des colonies rugueuses par une teneur plus élevée en lipides. Le rapport des lipides aux substances non lipidiques desséchées était de 1,46 pour les colonies lisses et de 0,35 pour les colonies rugueuses.

Au cours des réensemencements des deux variantes de ce bacille, effectués pendant deux ans sur pomme de terre glycé-

(1) Nous remercions M. Babelt de l'examen qu'il a bien voulu faire de nos pièces.

rinée, nous avons observé un affaiblissement de leur pouvoir pathogène. Au bout de cette période, la variante rugueuse ne donnait au cobaye aucune lésion des organes après inoculation sous-cutanée de 1 milligramme et, irrégulièrement, quelques très rares tubercules spléniques à la dose de 10 milligrammes. La variante lisse a perdu toute virulence pour le Lapin et la Poule. De nouveaux dosages effectués avec les souches ainsi atténuées ont montré que le rapport des lipides aux substances non lipidiques desséchées n'était plus que de 0,190 pour la variante lisse et de 0,155 pour la variante rugueuse.

Depuis lors, la variété rugueuse au cours de ces réensemencements successifs a oscillé entre l'aspect lisse et l'aspect rugueux.

Au moment où les deux variantes lisse et rugueuse de cette souche étaient nettement différenciées par leur aspect et leur teneur en lipides et où elles avaient presque perdu tout pouvoir pathogène, nous avons comparé leur pouvoir prémunisant vis-à-vis d'une infection tuberculeuse expérimentale du cobaye et du lapin.

#### EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES.

EXPÉRIENCE. — 8 cobayes ont reçu par voie sous-cutanée, le 26 juillet 1933, 20 milligrammes de la variante R de notre souche, 8 autres la même dose de la variante S. Dans chaque lot, 2 cobayes ont été conservés comme témoins. Les autres animaux ainsi inoculés et 6 cobayes neufs sont éprouvés deux mois après par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 0005 de la souche virulente bovine Cernay. Ils sont tous sacrifiés quarante jours après l'inoculation d'épreuve. Chez les 2 cobayes inoculés avec la variante R et non éprouvés, l'un n'a aucune lésion des organes, l'autre 3 tubercules sur la rate. Les 2 cobayes inoculés avec la variante S et non éprouvés ne présentent aucune lésion. Les cobayes témoins ont de très nombreux tubercules spléniques. Ceux-ci sont beaucoup plus rares sur les mêmes organes des cobayes préalablement inoculés avec les variantes R et S de notre souche, mais particulièrement chez ceux qui ont reçu l'injection de la variante S : 4 à 6 tubercules chez 4 animaux, aucune lésion splénique chez 2.

EXPÉRIENCE. — 9 cobayes ont reçu par voie sous-cutanée, le 8 décembre 1933, 10 milligrammes de la variante S de la même souche, et 18 autres la même dose de la variante R. Dans chaque lot, 3 cobayes ont été conservés comme témoins. Les autres animaux ainsi inoculés et 5 cobayes neufs sont éprouvés six semaines après, le 25 janvier 1934, par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 0005 de la souche virulente bovine Cernay.

Ils sont tous sacrifiés quarante-trois jours après l'épreuve virulente. Les 3 cobayes inoculés avec la variante S et les 3 cobayes inoculés avec la variante R et non éprouvés présentent des abcès intramusculaires de la



cuisse et des ganglions sous-lombaires légèrement hypertrophiés sans lésions des organes.

Les 5 cobayes témoins non préparés inoculés avec la bovine Cernay ont de gros ganglions inguinaux et sous-lombaires, leur rate présente de 20 à 25 tubercules.

Chez les 6 cobayes préalablement préparés avec la variante S de la souche Béc., les ganglions inguinaux et sous-lombaires ont des dimensions moitié moindres. 4 d'entre eux n'ont aucune lésion sur leur rate, le cinquième a une granulation et le sixième deux petites granulations.

Les 9 cobayes préalablement inoculés avec la variante R, puis éprouvés avec la bovine Cernay, ont leurs ganglions inguinaux et sous-lombaires de volume sensiblement égal à celui des cobayes témoins. A part 2 cobayes dont la rate est indemne de toute lésion, les autres ont des tubercules plus gros et plus nombreux que ceux préparés avec la variante S : 1 à 5 tubercules. L'un d'eux a quelques granulations sur les poumons.

Dans ces deux séries d'expériences, les cobayes immunisés par inoculation sous-cutanée préalable de 10 milligrammes de la variante S de la souche Béc. ont donc présenté une résistance plus marquée à une infection virulente d'épreuve réalisée par la même voie avec 0 milligr. 0005 d'une souche bovine virulente, que les cobayes immunisés de la même façon et avec la même dose de la variante R de la même souche.

#### EXPÉRIENCES SUR LES LAPINS.

EXPÉRIENCE. — Le 26 juillet 1933, nous avons inoculé, dans la veine de 6 lapins, 10 milligrammes de la variante lisse de la souche Béc., et à 6 autres la même dose de la variante rugueuse de la même souche. Deux mois après, ces 12 animaux sont éprouvés, ainsi que 6 lapins témoins, par inoculation intraveineuse de 0 milligr. 0005 de la souche virulente bovine Cernay. Tous ces animaux sont sacrifiés quarante jours après l'inoculation d'épreuve. Les animaux témoins présentent de nombreux tubercules pulmonaires. Les lapins qui ont reçu préalablement les variantes lisses et rugueuses en ont beaucoup moins, mais ceux d'abord traités par la variante lisse n'ont que 2 ou 3 granulations sur chaque poumon, alors que chez les lapins inoculés en premier lieu avec la variante R, les granulations sont plus nombreuses, quoique plus rares que chez les lapins témoins.

EXPÉRIENCE. — 2 lapins reçoivent dans la veine, le 8 décembre 1933, 16 milligrammes de la variante lisse de la souche Béc., et 2 autres la même dose de la variante R.

Le 25 janvier 1934, ils sont éprouvés ainsi que 2 témoins neufs, par inoculation intraveineuse de 0 milligr. 0005 de la souche bovine Cernay. Ils sont tous sacrifiés le 8 mars suivant.

Les 2 témoins ont de 15 à 20 granulations sur chaque poumon et 1 granulation sur chaque rein.

Les lapins immunisés par inoculation préalable de la variante S pré-

sentent, l'un une granulation sur un poumon et quelques granulations sur les reins, l'autre 2 granulations sur un poumon et aucune lésion aux reins. Ceux préalablement préparés par inoculation de la variante R présentent 3 à 4 granulations sur chaque poumon.

Comme pour les cobayes, il semble que les lapins immunisés avec la variante lisse de la souche Béc. présentent une résistance à une infection virulente d'épreuve légèrement supérieure à celle conférée aux lapins par la même dose de la variante rugueuse de la même souche.

Ces constatations sont à rapprocher de celles faites plus récemment par K. Birkhaug [7] et par A. Saenz et L. Costil [8] avec le BCG.

Nous avons ensuite recherché si les propriétés immunisantes de la souche lisse Béc. persistaient après cinq années de réensemencements sur les milieux artificiels.

EXPÉRIENCE. — 7 cobayes ont reçu le 25 juillet 1935, sous la peau, 10 milligrammes de la variété lisse de la souche Béc. Six semaines après ils ont été éprouvés, ainsi que 6 témoins, par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 002 de la souche bovine Vallée. Les lésions ganglionnaires des cobayes prémunis étaient à peu près semblables à celles des témoins. Mais chez les cobayes qui avaient reçu préalablement l'injection de la variété lisse Béc., 3 avaient une rate normale et 1 une grosse rate sans lésions, 3 un seul tubercule sur la rate, et 1 six tubercules, alors que les rates des cobayes témoins présentaient de nombreux tubercules.

Après plusieurs années de culture sur pomme de terre glycérinée, la souche lisse Béc. a donc conservé le même pouvoir immunisant.

POUVOIR PRÉMUNISANT DE DIFFÉRENTES SOUCHES  
DE BACILLES TUBERCULEUX A COLONIES LISSES  
QUI N'ONT PAS FAIT RETOUR A LA VARIÉTÉ RUGUEUSE VIRULENTE  
POUR LE COBAYE.

Nous avons utilisé la souche A, isolée par l'un de nous avec A. Troisier [9] des urines d'un malade atteint de fièvre typhoïde et à cuti-réaction positive et la souche 11-84, isolée d'un cobaye neuf par l'extrait acétonique.

Les bacilles de la souche A se développent dans la profondeur du milieu de Sauton et l'acidifient, sensibilisent le cobaye à la tuberculine jusqu'à la dilution de 0 milligr. 0001. Par ino-



culation sous-cutanée au cobaye de 0 milligr. 4 à 10 milligrammes, ils ne donnent à cet animal que des lésions locales. Au moment de leur isolement, ils tuaient le lapin en quatre à cinq semaines par inoculation intraveineuse de 1 milligramme avec une congestion intense des poumons, du foie et de la rate qui présentaient un semis de petites granulations et contenaient de nombreux bacilles. Les poules inoculées dans la veine avec 1 milligramme et 0 milligr. 01 de cette souche, sacrifiées au bout de quatre à six semaines, avaient un foie et une rate congestionnés, avec de nombreux bacilles acido-résistants. Après quelques réensemencements de cette souche sur pomme de terre glycinée, son pouvoir pathogène, pour le lapin et la poule, a complètement disparu.

La souche 11-84 n'a donné que des abcès au point d'inoculation chez les cobayes inoculés sous la peau de la cuisse avec 0 milligr. 01 et 1 milligramme. Les lapins inoculés dans la veine avec 0 milligr. 01 et 1 milligramme ont survécu. Sacrifiés plus de deux mois après l'inoculation, ils ne présentaient qu'une hypertrophie de la rate, surtout prononcée chez les animaux qui avaient reçu 1 milligramme. Les poules inoculées dans la veine avec 0 milligr. 01 et 1 milligramme ont également survécu. Elles ont été sacrifiées deux mois après leur inoculation, et ne présentaient aucune lésion. Seule, la poule qui avait reçu 1 milligramme avait des bacilles nombreux dans la rate, rares dans le foie.

W. Schaefer, qui a bien voulu examiner ces deux souches au point de vue de leurs caractères sérologiques, et que nous tenons à remercier ici de son obligeance, a classé la première dans le groupe qu'il distingue des bacilles aviaires par son antigène spécifique et la seconde dans le groupe aviaire.

EXPÉRIENCE. — Le 26 septembre 1934, 10 cobayes reçoivent sous la peau 10 milligrammes de la souche A et 10 autres cobayes 10 milligrammes de la souche 11-84. Le 3 novembre 1934, ils sont éprouvés, ainsi que 5 témoins, par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 001 de la souche humaine V. très virulente.

Tous ces animaux sont sacrifiés le 20 décembre suivant.

Les cobayes témoins ont de gros ganglions inguinaux et sous-lombaires caséeux, leur rate est couverte de tubercules, d'autres ont quelques tubercules sur le foie et les poumons.

Dans le lot prémuni par la souche A, les lésions des ganglions sont sensiblement égales à celles des animaux témoins, quoique un peu moins prononcées, 7 n'ont aucune lésion de la rate; 2 de ces derniers ont 1 ou 2 granulations sur les poumons; les autres présentent de 1 à 3 tubercules sur la rate, 1 seul de ces derniers a quelques granulations sur les poumons.

Dans le lot prémuni par la souche 11-84, si les lésions ganglionnaires ne diffèrent guère de celles des cobayes témoins, 4 cobayes n'ont aucune lésion des organes, les autres ont de 1 à 4 tubercules sur la rate; 2 de ces derniers ont quelques rares granulations sur les poumons.

L'inoculation sous-cutanée de 10 milligrammes de chacune de ces souches à des cobayes leur a donc donné une résistance manifeste à une infection virulente d'épreuve.

Dans une autre série d'expériences, nous avons comparé les propriétés prémunisantes de la souche A avec celles de la souche Béc. lisse et de la souche aviaire Truche (variété lisse).

EXPÉRIENCE. — Le 25 juillet 1935, 10 cobayes reçoivent sous la peau 10 milligrammes de la souche A, 10 autres la même dose de la souche Béc. et 10 autres 10 milligrammes de la souche aviaire Truche.

Le 10 septembre, dans chaque lot, 5 cobayes sont éprouvés, ainsi que 5 cobayes témoins par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 001 de la souche humaine C.

Tous les animaux ont été sacrifiés le 21 novembre.

Dans tous les lots, les lésions ganglionnaires inguinales et sous-lombaires étaient sensiblement égales à celles des témoins.

Parmi les animaux éprouvés avec la souche bovine Vallée, les témoins avaient 8 à 10 tubercules sur leurs rates. Parmi ceux prémunis avec la souche A, 1 seul avait 5 tubercules sur la rate; dans le lot préparé avec la souche Béc. 1 seul avait 1 tubercule sur la rate; dans celui préparé avec la souche aviaire, 1 seul avait 1 gros tubercule sur la rate et des lésions épiploïques.

Dans le lot des animaux éprouvés avec la souche humaine C, les témoins et les prémunis avaient les mêmes lésions ganglionnaires. Les témoins avaient de 8 à 10 tubercules sur leur rate, et 2 des granulations sur le foie et les poumons. Parmi ceux préparés avec la souche A, aucun n'avait de lésions des organes; dans le lot prémuni par la souche Béc., 1 seul avait 5 granulations sur la rate et 1 autre une grosse rate; dans celui préparé avec la souche aviaire, les 2 seuls survivants avaient leur rate normale.

D'après ces dernières expériences, les propriétés prémunisantes des souches A. et Béc. s'exercent aussi bien à l'égard d'une infection expérimentale d'origine humaine que d'origine bovine et ne diffèrent sensiblement pas de celles d'une souche aviaire authentique.



POUVOIR IMMUNISANT DES BACILLES TUBERCULEUX  
A COLONIES LISSES TUÉS PAR LA CHALEUR.

W.-P. Soper, L.-K. Alpert et M.-J. Adams [40] ont vacciné plusieurs lots de lapins par injection sous-cutanée de 1 milligr. 5 de BCG ou de 1 milligr. 5 de bacilles de la souche bovine B<sub>1</sub> à colonies lisses tués à 100° ou de 1 milligramme de bacilles humains (H<sub>37</sub>). Six semaines plus tard, tous ces animaux et des témoins ont reçu par la voie méningée environ 800 bacilles bovins virulents.

Les animaux vaccinés par les bacilles S tués parurent résister mieux à cette épreuve que les lapins vaccinés par le BCG ou par les bacilles humains vivants.

F. Van Deinse [41] a constaté que les bacilles tuberculeux à colonies lisses, tués par la chaleur et injectés à plusieurs reprises dans la veine et sous la peau de lapins, immunisent ces animaux contre une infection réalisée par voie veineuse avec le bacille homologue, mais non contre une infection déterminée par un autre type de bacille.

Nous avons, de notre côté, essayé de nous rendre compte si des bacilles de souches à colonies lisses présentent après chauffage, un pouvoir immunisant supérieur à celui des bacilles des colonies rugueuses. On sait que les bacilles tuberculeux des mammifères tués par la chaleur ne confèrent aux animaux auxquels ils sont injectés, qu'une résistance peu marquée et très passagère ou nulle à une infection virulente d'épreuve.

EXPÉRIENCE. — Le 22 mars 1934, 10 cobayes reçoivent sous la peau 20 milligrammes de bacilles de la souche A, chauffés une heure à 70°, et 10 autres cobayes la même dose de bacilles de type humain à colonies rugueuses soumis au même traitement.

Un mois après, tous ces animaux ainsi que 6 cobayes neufs témoins, ont été éprouvés par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 0001 de la souche bovine Cernay.

Ils ont tous été sacrifiés six semaines plus tard.

Tous les cobayes préparés avec les souches lisse A et humaine rugueuse chauffées et les cobayes témoins avaient des lésions à peu près semblables des ganglions inguinaux et sous-lombaires et des tubercules assez nombreux sur leur rate. Cependant, les ganglions inguinaux et sous-lombaires des cobayes préalablement inoculés avec la souche lisse étaient, d'une façon générale, moins volumineux que ceux des deux autres lots, et leurs lésions spléniques un peu moins prononcées.

EXPÉRIENCE. — 2 lapins ont reçu dans la veine 20 milligrammes de la souche lisse, chauffée 1 heure à 70°, et deux autres 20 milligrammes de la souche humaine rugueuse, chauffée une heure à 70°.

Un mois après, ces 4 lapins ainsi que 2 lapins témoins neufs ont été éprouvés par inoculation intraveineuse de 0 milligr. 001 de la souche bovine Cernay.

Tous ces lapins ont été sacrifiés deux mois après l'inoculation virulente d'épreuve. Tous présentaient sur leurs poumons un nombre sensiblement égal de tubercules, sans lésions des autres organes.

Si, chez les cobayes, nous avons constaté une légère différence en faveur de ceux préalablement inoculés avec les bacilles de la souche lisse tués par chauffage, les lapins préparés avec les bacilles de la souche lisse et de la souche rugueuse, soumis au même traitement, se sont comportés comme les témoins vis-à-vis d'une infection virulente d'épreuve.

### Conclusions.

L'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse au cobaye et au lapin de variétés lisses de bacilles tuberculeux, isolés par l'extract acétonique de bacilles de Koch de produits pathologiques humains ou de cobayes neufs, d'emblée peu pathogènes ou artificiellement atténués par réensemencements successifs sur les milieux de culture, provoque chez ces animaux une infection bénigne, dont les manifestations histologiques sont transitoires, mais qui paraît se prolonger plus longtemps par la présence des bacilles dans l'organisme. A la suite de cette infection passagère, provoquée par les variétés lisses de bacilles tuberculeux, le cobaye et le lapin présentent une résistance manifeste à une infection tuberculeuse d'épreuve. Cette résistance est plus marquée après inoculation de la variété lisse que de la variété rugueuse avirulente de la même souche de bacilles tuberculeux.

Ce pouvoir prémunisant plus marqué de la variété lisse, dépend peut-être de sa composition chimique spéciale, puisque sa teneur en lipides est plus élevée que celle des bacilles de la variété rugueuse correspondante, comme nous l'avons constaté avec A. Bonnefoi.

Il est intéressant, à ce sujet, de noter, sans en tirer pour le moment aucune conclusion, que les bacilles tuberculeux qui ont jusqu'à présent, donné les résultats les plus démonstratifs au point de vue de leur pouvoir vaccinant, sont le bacille



homogène d'Arloing et le bacille bilié de Calmette et Guérin. Or, le bacille homogène d'Arloing, paraît être une variété lisse de bacilles tuberculeux, sélectionnée par sa culture en profondeur dans un milieu liquide, et le bacille BCG de Calmette et Guérin, à la suite de son maintien pendant un grand nombre d'années en milieu bilié, se distingue, d'après Chargaff, des bacilles tuberculeux à colonies rugueuses de types humain et bovin par une teneur plus élevée en lipides, comme les variétés lisses de bacilles tuberculeux.

Quels que soient leurs origines ou leurs caractères, qu'elles aient fait retour ou non à la variété rugueuse virulente pour le cobaye, toutes les souches de bacilles tuberculeux à colonies lisses que nous avons étudiées ont présenté, à de faibles variations près, le même pouvoir prémunisant contre une infection tuberculeuse provoquée par des bacilles virulents de types humain et bovin.

Ces propriétés semblent s'être maintenues intactes après plusieurs années de réensemencements de la souche lisse Béc. sur les milieux artificiels.

Lorsqu'ils ont été soumis à un chauffage d'une heure à 70°, les bacilles des colonies lisses paraissent, comme ceux des colonies rugueuses, perdre la plus grande partie de leur pouvoir immunisant.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. NÈGRE, J. VALTIS, F. VAN DEINSE et J. BEERENS. *La Presse Médicale*, 24 décembre 1932, p. 1246.  
L. NÈGRE, J. VALTIS et F. VAN DEINSE. *La Presse Médicale*, 23 septembre 1933, p. 1471.
- [2] L. NÈGRE, J. VALTIS et A. BONNEFOI. *C. R. Soc. de Biol.*, **114**, 2 décembre 1933, p. 1060.
- [3] L. NÈGRE et J. BRETEY. *C. R. Soc. de Biol.*, **118**, 26 janvier 1935, p. 295.
- [4] A. SAENZ, L. COSTIL et M. SADETTIN. *C. R. Soc. de Biol.*, **118**, 16 février 1935, p. 643 et 645; **119**, 20 juillet 1935, p. 1286; **120**, 19 octobre 1935, p. 300.
- [5] L. NÈGRE, J. VALTIS et Guy LAROCHE. *C. R. Soc. de Biol.*, **108**, p. 482.  
L. NÈGRE et J. VALTIS, *Ces Annales*, **51**, novembre 1933, p. 591.
- [6] MAX PINNER. *American Review of Tubercul.*, octobre 1930.
- [7] K. BIRKHAUG. *C. R. Soc. de Biol.*, **119**, 25 mai et 1<sup>er</sup> juin 1935, p. 370 et 472.
- [8] A. SAENZ et L. COSTIL. *C. R. Soc. de Biol.*, **116**, 21 juillet 1934, p. 1265.
- [9] L. NÈGRE et J. TROISIER. *C. R. Soc. de Biol.*, **119**, 22 juin 1935, p. 820 et *La Presse Médicale*, 9 novembre 1935, p. 1745.
- [10] W. B. SOPER, L. K. ALPERT et M. J. ADAMS. *Amer. Rev. of Tuberc.*, **28**, novembre 1933, p. 667.
- [11] F. VAN DEINSE. *C. R. Soc. de Biol.*, **120**, 4 janvier 1936.

## LA MALADIE DE BANG EN YUGOSLAVIE CHEZ L'HOMME

par T. V. SIMITCH et M. DJOURICHITCH.

(*Institut de bactériologie de Beograd.*)

Dans un article précédent, nous avons exposé les résultats de nos recherches sur la question de la maladie de Bang chez le bétail, dans notre pays. Ici, nous voudrions montrer l'importance de *Brucella abortus* dans la pathologie de l'homme. Mais avant de faire cet exposé, nous indiquerons sommairement les conceptions actuelles sur cette question.

Bien que les avortements contagieux, chez le bétail, soient connus depuis longtemps (Lehnart, Nocard, etc.) et que l'agent de cette maladie chez les bovins ait été découvert, depuis 1896, par Bang et Striborth, néanmoins, chez l'homme, les cas de maladie provoqués par ces micro-organismes n'ont pu être établis avec certitude avant 1911. Les raisons en doivent résider d'une part, dans le fait que cette maladie était, dans la plupart des cas, confondue avec d'autres (étant donnée la grande ressemblance de ses symptômes cliniques avec le tableau clinique de certaines autres affections) et, d'autre part, en ce que la réaction d'agglutination qui permet de faire le diagnostic avec une certaine certitude n'a commencé à être appliquée systématiquement que ces derniers temps.

Depuis 1911, époque où commence la seconde phase de nos recherches sur la maladie de Bang, il est paru un nombre toujours plus grand de publications exprimant d'une manière de plus en plus déterminée l'avis que certaines épidémies aussi bien que des cas sporadiques sont provoqués par des *Brucella* du type bovin. Les premières communications dans ce sens ont été faites aux États-Unis où l'on a constaté des cas de maladie parmi des enfants nourris de lait frais de vaches atteintes de la maladie de Bang. La guerre mondiale mit cette question quelque peu à l'écart, mais depuis 1924 on



signale un nombre toujours plus grand de cas provoqués, par le bacille de Bang. La valeur des communications publiées jusqu'ici est sans doute importante et une critique scientifique sévère ne saurait contester aujourd'hui qu'elles présentent assez d'arguments scientifiques à l'appui de la possibilité de la contagion de Bang chez l'homme.

On ne peut accueillir sans réserves les publications d'Italie, de France et d'Espagne, relatives à l'apparition assez fréquente depuis ces derniers temps de la fièvre ondulante car dans ces pays le diagnostic différentiel entre ces deux maladies est d'une grande difficulté. En effet, même dans les cas où la présence de la chèvre ne pouvait être prouvée et où de nombreux faits semblaient montrer clairement l'existence d'une liaison causale entre les cas de maladie parmi les hommes et les avortements contagieux parmi les bovins, on n'a pu éliminer complètement les doutes sur l'exactitude du diagnostic.

Dans des pays tels que le Danemark, la Suède et l'Allemagne, où il ne saurait en général être question de la fièvre ondulante, on est entré cependant, surtout depuis 1928, par la constatation de certains cas de maladie et par l'application systématique de la réaction d'agglutination, dans une nouvelle phase de l'étude de la maladie de Bang. La grande importance que cette question peut avoir pour différents pays, ressort le mieux des ouvrages publiés par exemple au Danemark et aux États-Unis et d'après lesquels on devrait consacrer à la maladie de Bang (eu égard au nombre de cas) la même attention qu'à la fièvre typhoïde. Dans le seul but d'étudier et de combattre cette maladie, les États-Unis ont désigné une commission spéciale, et mis à sa disposition un crédit de 7 millions de dollars.

Les communications publiées dans les pays du nord de l'Europe attirèrent sur ce problème l'attention des pays du bassin méditerranéen. Les recherches faites dans ces pays et communiquées pour la plupart en 1932 au Congrès de l'Hygiène des pays méditerranéens, firent ressortir l'importance incontestable de ce problème, pour ces derniers. Malheureusement, à ce Congrès, où des rapports furent présentés par presque tous les pays intéressés, il manquait seulement un rapport yougoslave. Ce fait constitue une des raisons qui nous ont conduits à examiner en détail cette question dans notre pays.

Sur les cas de maladie de Bang chez l'homme en Yougoslavie, il existe encore moins de renseignements que sur la contagion du bétail. Dans la littérature que nous avons pu recueillir, nous n'avons trouvé qu'un seul cas, décrit par J. Vrtovelz (publié dans le *Zdravnicki Vesnik*, 1930). Pour ces raisons, et en raison du fait qu'au cours de nos recherches antérieures, nous avons constaté l'existence de cette contagion chez le bétail dans certaines régions de notre pays, notre travail ultérieur consistait principalement à obtenir un tableau, fût-il approximatif, de l'expansion de la brucellose dans notre population. Nous voulions en même temps examiner les formes sous lesquelles cette contagion apparaît chez nous (cas manifestes ou latents), en particulier dans les régions les plus menacées, quant au mode de propagation de cette maladie.

Mais comme, dans ces travaux, nous devons prendre les résultats de la réaction de l'agglutination pour base de nos conclusions, nous avons essayé au préalable de contrôler sa *valeur*, c'est-à-dire sa *spécificité* chez l'homme. Afin de résoudre cette question, il était nécessaire de contrôler tout d'abord si le sang normal des sujets humains de nos milieux contenait des agglutines pour le bacille de Bang. A cet effet, nous examinâmes le sang d'une trentaine d'enfants au-dessous d'un an. Le tableau ci-joint montre que dans aucun de ces cas nous n'avons obtenu une réaction positive, ce qui nous permet de conclure que *le sang humain normal n'agglutine pas en général les Brucella*.

TABLEAU I.

NOMBRE de sangs des enfants examinés	RÉSULTATS			
	positifs	p. 100	négatifs	p. 100
40 . . . . .	0	»	40	100

Quant à la solution de la deuxième question, (spécificité), nous espérons pouvoir la trouver tout d'abord dans la réaction du sang de malades atteints d'autres maladies contagieuses, en contrôlant si le sang de ces malades ne contenait pas aussi



TABLEAU II.

CAS	NOMBRE DE CAS examinés	LE SANG AGGLUTINE												LE SANG n'agglutine pas	
		1/20	p. 100	1/40	p. 100	1/50	p. 100	1/100	p. 100	1/150	p. 100	1/200	p. 100		p. 100
Tuberculeux. . . . .	87	2	2,3	1	1,15									84	96,55
Syphilitiques . . . .	718	87	12			25	3,56	3	0,42			2	0,14	601	84
Typhiques. . . . .	463	8	1,11			13	1,82	11	1,54			2	0,28	429	90
Femmes enceintes.	60			2	3,32					2	3,32			56	92,96

d'agglutinines pour le bacille de Bang. Eu égard au phénomène déjà constaté d'agglutination de groupe pour différentes sortes de bactéries, aussi bien qu'à l'apparition fréquente de certaines contagions dans notre milieu, nous considérons que les malades atteints de fièvre typhoïde, de tuberculose et de syphilis devaient entrer principalement en ligne de compte.

Le tableau II montre que nous avons examiné au total le sang de 87 tuberculeux, parmi lesquels il y avait des malades avec ou sans température élevée, atteints de tuberculose chronique, ouverte, etc., 84, c'est-à-dire 96,55 p. 100 de ces malades n'agglutinaient pas le bacille de Bang. Dans 2 cas (2,3 p. 100), l'agglutination s'élevait à 1/20 et dans un cas à 1/40 (1,15 p. 100). Il ressort clairement de ces chiffres que le sérum des tuberculeux ne contient pas d'agglutinines non spécifiques pour le bacille de Bang et qu'au point de vue du diagnostic différentiel, cette maladie n'entre pas en ligne de compte, cela d'autant plus que pour le diagnostic de la contagion de Bang, chez l'homme, on prend comme titre limite minimum 1/100.

Chez les syphilitiques, les résultats sont semblables. Sur 718 sérums de syphilitiques (voir tableau II), 3 seulement ont agglutiné à 1/100, 2 à 1/200 et 713 (99,24 p. 100) n'ont pas réagi, ou bien ont donné une agglutination tellement insignifiante qu'elle ne saurait pratiquement être prise en considération. Il en ressort que le sérum des syphilitiques ne contient pas non plus d'agglutinines non spécifiques. On peut l'affirmer d'autant plus aisément, que dans les 3 cas où le titre a été égal

ou même au-dessus de la « zone-limite probante » (1/100), les données anamnestiques n'excluaient pas la possibilité d'une contamination antérieure par des bacilles de Bang, car un des malades (un Russe) aurait déjà présenté une maladie semblable à la fièvre récurrente (température ondulante) et deux autres des accès de malaria (ce qui n'exclut pas non plus la maladie de Bang, la malaria n'ayant pas été prouvée microscopiquement).

Enfin, il ressort du tableau II que, sur 463 sérums de malades atteints de fièvre typhoïde, 13 seulement (2/8 p. 100) agglutinaient le bacille de Bang à la dilution de 1/100 et au-dessus, tandis que 450 (97.2 p. 100) n'agglutinaient point ou agglutinaient seulement à des dilutions très faibles.

La question de savoir si les agglutinations à un titre de 1/100 et au-dessus, que nous trouvons dans ces cas, sont positives, peut aujourd'hui être très difficilement résolue avec une certitude absolue. Afin de la résoudre, on devrait étudier exactement chaque cas séparé; or, ceci est impossible à l'heure actuelle.

Nous croyons que, dans ce cas, les réactions positives obtenues avec le bacille de Bang sont une conséquence d'une brucellose subie antérieurement. Nous fondons notre point de vue sur les faits suivants :

1° L'anamnèse de ces 13 malades, bien qu'incomplète, n'exclut pas l'existence antérieure d'une contagion par la maladie de Bang, étant donné le genre d'occupations de ces malades paysans.

2° Les sérums agglutinants d'un titre élevé, préparés avec des bacilles des groupes typhique et paratyphiques n'agglutinent pas en général les bacilles de Bang. De même, les sérums obtenus à l'aide de *Brucella abortus* et *melitensis* se sont montrés complètement inactifs contre les bacilles typhiques et paratyphiques. Or, ceci aurait été impossible si les antigènes des bacilles typhiques et des brucelles possédaient quelque composant commun.

En conséquence, nous pensons que notre hypothèse selon laquelle dans les cas sus-mentionnés on ne saurait parler de co-agglutinines, mais seulement d'anticorps agglutinants spécifiques, est beaucoup plus vraisemblable.



En rapport avec cela, il faudrait éclaircir encore une question. D'après les expériences de Kamada, les agglutinines non spécifiques apparaissent dans le sérum des femmes enceintes en telles quantités qu'on ne saurait leur appliquer la réaction d'agglutination pour le diagnostic de la maladie de Bang, ou si on l'applique, on doit le faire avec la plus grande prudence. Les agglutinations positives obtenues à l'aide de sérums de femmes enceintes, suivant Kamada, ne sont pas dans la grande majorité des cas des réactions antigènes spécifiques, mais seulement une sorte de réaction provoquée par l'altération du sérum par suite des processus physico-chimiques non spécifiques se produisant dans l'organisme.

Dans ce but, nous avons examiné le sang de 60 femmes enceintes (v. tableau II), dont 56 donnèrent une réaction complètement négative; 2 seulement ont agglutiné à 1/40 et 2 à 1/160.

Ainsi, un nombre minimum de ces sérums ont réagi positivement; mais, à notre avis, ces réactions positives ne peuvent pas être interprétées dans le sens des conceptions de Kamada. Premièrement, en raison du fait que nous avons constaté aussi, à l'occasion d'autres examens (de sérums provenant de typhiques et de syphilitiques) qu'un nombre insignifiant de sérums peuvent donner des réactions faiblement positives; en outre, ayant trouvé, à l'occasion de nos examens sur des enfants, que les sérums normaux n'agglutinent pas, en général, les bacilles de Bang, nous sommes d'avis que ces réactions positives peuvent, elles aussi, être considérées comme la conséquence de quelque infection latente antérieure. Deuxièmement, dans les deux cas où nous avons obtenu une réaction quelque peu plus forte (titre 1/160), il s'agissait, dans l'un d'une paysanne, par conséquent, même si celle-ci niait avoir souffert d'une affection semblable à la maladie de Bang dans le passé, on ne peut exclure complètement la possibilité d'une contagion latente. Dans l'autre cas, où il s'agissait de la femme d'un tailleur, il n'a pu être constaté anamnestiquement rien de douteux et, par conséquent, il nous est impossible de donner une explication plus ou moins sûre de l'apparition d'agglutinines dans son sérum. Néanmoins, nous pensons, en tenant compte des autres résultats, que ce

seul cas peu clair ne saurait aucunement diminuer la valeur de nos conclusions.

D'après les résultats exposés ci-dessus, nous pensons qu'on est en droit de conclure que la réaction d'agglutination est *suffisamment spécifique* pour le bacille de l'avortement et que, comme telle, elle peut être employée pour le diagnostic de la maladie de Bang.

Afin d'avoir maintenant un tableau plus démonstratif de l'existence de la contagion par le bacille de Bang chez les habitants de nos régions, nous avons complété nos recherches par une série d'examens de sang, spécialement sur des personnes qui, par la nature de leurs occupations (personnel des abattoirs, vétérinaires) sont le plus exposées à la contagion par ces bacilles. Nous avons effectué, en tout, 1.481 examens à l'occasion desquels nous constatâmes, dans 21 cas, une réaction positive avec un titre minimum de 1/100. Bien que le matériel pour ces examens ait été prélevé, dans la majorité des cas, sur des habitants de Belgrade et de ses environs immédiats et éloignés, néanmoins, les résultats obtenus disent clairement que l'existence de cette contagion dans notre population ne saurait être niée. Seulement, nous devons avouer que les renseignements recueillis et les constatations faites ne permettent pas d'avoir un tableau net de l'extension de cette maladie dans le pays et les formes qu'elle revêt.

Pour avoir une idée plus exacte sur ce sujet, nous avons étudié cette question quant au mode de transmission de la maladie à sa source même, c'est-à-dire dans les centres où elle sévit le plus parmi le bétail.

Ayant constaté, lors de nos recherches antérieures, qu'il existe deux de ces centres dans notre pays — Belje (centre le plus important) et Karadjordjevo (centre d'importance beaucoup plus faible), nous avons concentré notre travail principalement dans ces deux domaines. Nous devons souligner immédiatement que, malgré la prévenance des Directeurs de ces domaines (nous exprimons en particulier nos vifs remerciements à M. le Dr Grouitch), nous avons rencontré néanmoins de grandes difficultés dans notre travail. Le personnel employé s'opposait à toute intervention, et en particulier au prélèvement de sang. Afin d'obtenir les renseignements et le

matériel nécessaires, nous dûmes toujours nous rendre personnellement dans ces domaines ce qui, naturellement, rendait difficile et ralentissait notre travail.

Le personnel des deux domaines peut être divisé en deux groupes principaux : personnel permanent et personnel saisonnier. Ce dernier groupe comprend, en particulier, les trayeurs qu'on n'embauche que pour la saison du plus grand travail, après quoi ils regagnent leur domicile. Le personnel des deux groupes s'occupe, en dehors de la traite, d'autres travaux afférents au bétail. Cette remarque est très utile car on a déjà constaté que les trayeurs sont fortement exposés à la contagion par le bacille de Bang.

Avant de prélever le matériel nécessaire, nous fîmes une enquête auprès de la totalité du personnel, afin de recueillir des données anamnestiques. Dans les renseignements recueillis, nous n'avons pu trouver aucun fait qui confirmerait l'existence de la maladie de Bang. Presque tout le personnel nous déclara qu'il s'était senti auparavant et continué à se sentir en parfaite santé et qu'il n'avait jamais présenté des symptômes semblables à ceux que nous constatons chez des personnes contaminées par des bacilles de Bang. Seul un trayeur de Karadjordjevo s'est plaint d'avoir souffert quatre mois auparavant de la malaria. La température anormale avait duré vingt-deux jours, mais le sang n'avait pas été examiné microscopiquement. Un autre trayeur (du même domaine) avait eu dernièrement une température anormale (pendant dix jours) et des douleurs dans les articulations. Le diagnostic resta cependant obscur. Nous ajouterons ici qu'il était interdit au personnel de boire du lait cru. Or, l'observation de cette interdiction ne pouvait être exactement contrôlée, ce qui est d'ailleurs compréhensible. Il est presque hors de doute que, malgré l'interdiction, le personnel buvait du lait cru.

Au total nous avons fait 53 prélèvements de sang parmi le personnel de ces domaines. Les résultats obtenus à l'aide de la réaction sérologique, sont exposés dans les tableaux III et IV. Les conclusions qui, pour ainsi dire, s'imposent à l'étude de ces tableaux, peuvent être résumées comme suit :

1<sup>re</sup> Malgré l'absence de tout symptôme clinique, le sang de la grande majorité du personnel examiné réagit positivement



TABLEAU III.

NUMÉROS	NOM des cas	ÉCURIE	EMPLOI	ENGAGÉ depuis	TITRE agglutinant dans le sang	RÉACTION allergiques	OBSERVATIONS
1	F. Z.	Beljé.	Trayeur.		0		Femme du n° 8.
2	C. C.	Beljé.	Fermier.		0		
3	S. C.	Beljé.	Trayeur.		1/20		
4	V. M.	Beljé.	Trayeur.		1/20		
5	G. D.	Beljé.	Trayeur.		1/40		
6	J. M.	Beljé.	Trayeur.		1/80		
7	J. S.	Beljé.	Trayeur.		1/80		
8	F. C.	Beljé.	Trayeur.		1/160		
9	V. J.	Beljé.	Trayeur.		1/160		
10	H. J.	Cnegevo.	Trayeur.		0		
11		Cnegevo.	Trayeur.		0		
12		Cnegevo.	Trayeur.		0		
13		Cnegevo.	Trayeur.		0		
14		Socolovatz.	Trayeur.		0		
15		Socolovatz.	Trayeur.		0		
16		Socolovatz.	Trayeur.		0		
17		Socolovatz.	Trayeur.		1/200		
18		Cosjac.	Trayeur.		0	0	Sain.
19		Cosjac.	Trayeur.		1/40	0	Sain.
20		Cosjac.	Trayeur.		1/80	+++	Constipation et mal de tête.
21		Cosjac.	Trayeur.		1/160	+++	Sain.
22		Cosjac.	Trayeur.		1/160	+++	Sain.
23		Cosjac.	Trayeur.		1/160	+	Sain.
24		Cosjac.	Trayeur.		1/320	+	Sain.
25		Cosjac.	Trayeur.	3 ans.	1/320	+	Sain.
26		Cosjac.	Trayeur.		1/640	++	Sain.
27		Cosjac.	Trayeur.		1/640	+	Sain.
28		Chiriné.	Trayeur.	9 mois.	1/40	+	Sain.
29		Chiriné.	Trayeur.	3 ans.	1/80	+	Sain.
30		Chiriné.	Trayeur.	18 mois.	1/80	0	Chez les vaches qui ont avorté.
31		Chiriné.	Trayeur.	9 mois.	1/80	0	Sain.
32		Chiriné.	Trayeur.	1 mois.	1/160	0	Sain.
33		Chiriné.	Trayeur.	3 mois.	1/160	0	Sain.
34		Chiriné.	Trayeur.	1 an.	1/320	+++	Sain.
35		Chiriné.	Trayeur.	4 mois.	1/640	+ 0	Sain.
36		Chiriné.	Trayeur.	7 mois.	1/640	+	Sain.
37		Chiriné.	Trayeur.	1 mois.	1/640	+++	Sain.
38		Chiriné.	Trayeur.	8 mois.	1/640	+++	Chez les vaches qui ont avorté.
39		Caradjordjevo.	Trayeur.	5 ans.	1/40	0	Douleurs dans l'ab- domen.
40		Caradjordjevo.	Trayeur.	3 mois.	1/40	0	Sain.
41		Caradjordjevo.	Trayeur.	2 ans.	1/80	0	Sain.
42		Caradjordjevo.	Trayeur.	3 mois.	1/160	0	Fièvre et douleurs dans les articula- tions.
43		Caradjordjevo.	Trayeur.	2 mois.	1/160	0	Sain.
44		Caradjordjevo.	Trayeur.	3 mois.	1/320	0	Sain.
45		Caradjordjevo.	Trayeur.	3 ans.	1/640	0	Mentionne qu'il a eu des attaques de ma- laria il y a quatre mois.

avec des bacilles de Bang. Cette réaction est dans presque 50 p. 100 des cas d'une telle intensité, qu'elle peut être considérée comme la preuve que la contagion de Bang existe ou a existé antérieurement.

2° En ce qui concerne l'intensité de réaction, il n'y a aucune différence entre le personnel permanent et le personnel saisonnier.

3° Dans les deux cas précités de maladie constatés à Karadjordjevo, un des malades avait été sans aucun doute contaminé par le bacille de Bang. En raison de l'importance de l'agglutination (1/640), on pourrait croire que les symptômes cliniques mentionnés ont été probablement provoqués par l'infection brucellique.

4° Ainsi qu'il ressort du tableau IV, parmi les personnes

TABLEAU IV. — Examen du sang des bouchers  
des abattoirs de Belgrade et Belje.

SANG des bouchers de l'abattoir de	NOMBRE de cas examinés	NOMBRE DE CAS POSITIFS AVEC LE TITRE								NOMBRE de cas négatifs	
		1/20	p. 100	1/40	p. 100	1/160	p. 100	1/320	p. 100		p. 100
Belgrade . . .	38			2	5,23					36	94,77
Belje . . . . .	10	1	10	2	20	1	10	1	10	5	50

examinées, il y avait 10 bouchers, c'est-à-dire des personnes s'occupant exclusivement d'abatage de bétail et de préparation de viandes provenant du domaine de « Belje ». Le sang de 50 p. 100 de ces sujets ont réagi positivement et dans 2 cas (20 p. 100) nous avons obtenu une réaction d'une intensité dépassant la limite probante (titre 1/100). Ce fait est très intéressant et important, en particulier en le comparant avec les résultats obtenus chez les bouchers de Belgrade, qui ont donné des réactions positives faibles seulement dans 5 p. 100 des cas. Le nombre plus important de réactions positives chez les bouchers de Belje ne peut s'expliquer que par une possibilité plus grande de contamination lors de la préparation de viandes contaminées. Les bouchers de Belgrade ont affaire principale-

ment à du bétail sain, d'où les contaminations rares et le faible nombre de réactions positives. Cette constatation prouve la valeur de nos renseignements exposés plus haut, ainsi que l'exactitude de nos conclusions.

En étudiant tous ces faits, nous arrivons à une nouvelle constatation importante, à savoir : *que la maladie de Bang, chez l'homme, dans nos centres les plus contaminés, n'apparaît dans la majorité des cas, que sous la forme latente.* Cette constatation pose la question de savoir pourquoi les contaminations provoquées par cette bactérie dont il est prouvé indubitablement qu'elle est pathogène pour l'homme, n'apparaissent sous cette forme que dans certains pays? Nous soulignons que cette question n'est pas nouvelle. Elle a déjà été posée, car on avait remarqué que la maladie peut apparaître ainsi que nous l'avons déjà indiqué plus haut, sous deux formes tout à fait différentes, contamination manifeste au point de vue clinique et contamination latente. En effet, tandis qu'au Danemark, en Suède et en Suisse les cas de maladie sont très fréquents et le tableau clinique très net, en France ils sont très rares, bien que les avortements y soient très répandus. On a répondu à cette question par deux hypothèses. Thomson, se fondant sur ses études au Danemark, considère qu'on doit en chercher les raisons *dans la puissance variée de la virulence et dans l'allergie.* Les hommes s'immunisent ou se prémunissent (prémunition de Sergent) dès le premier contact, sous réserve, bien entendu que ce premier contact ne soit, ni trop massif, ni trop virulent. Burnet pense pourtant que *le terrain humain* n'est pas le même dans les différents pays. Selon lui, l'extension du bacille de Bang au Danemark représente *un phénomène nouveau*, et les germes virulents rencontrent un terrain tout à fait nouveau. Par contre, en France, le terrain est devenu plus résistant, probablement à cause de la pénétration ancienne et lente.

L'hypothèse de Burnet sur « la résistance augmentée, due à l'invasion ancienne et lente », examinée à travers nos constatations, ne saurait être adoptée. Tout montre que cette invasion de l'infection brucellique dans notre pays est d'origine récente; elle provient du bétail importé de l'étranger, d'où sa concentration dans quelques domaines modèles. Comment expliquer alors



le fait qu'elle n'apparaît dans ce nouveau milieu que sous une forme latente? Nous croyons qu'on ne peut répondre à cette question que dans le sens de l'hypothèse de Thomson, c'est-à-dire que le premier contact n'a été ni trop massif, ni trop virulent. Les germes faiblement virulents, ayant pénétré probablement en faibles quantités n'ont pu provoquer dans l'organisme que des réactions *d'immunisation et de prémunition*, et non pas des cas cliniques. C'est en faveur de ce point de vue sur le double mécanisme de notre défense contre le bacille de Bang, que parlent justement les constatations que nous avons faites à l'aide de la réaction d'agglutination et la réaction allergique, car si nous prenons en considération les renseignements exposés dans notre tableau III nous verrons clairement que s'il est vrai, d'une part, que la majorité du personnel des deux principaux centres contaminés est immunisé — si l'on en juge, d'après la réaction d'agglutination, — d'autre part, une bonne partie des personnes examinées montre en même temps une réaction allergique intense. Cet état allergique peut, à notre avis, comme c'est le cas pour la tuberculose, servir également à la défense de l'organisme.

Il va de soi que ce mécanisme de défense ne se manifeste pas de la même manière chez tout les sujets. Chez un organisme les deux réactions *immunisation* (apparition d'anticorps) et *prémunition* (apparition de la réaction allergique) se manifestent clairement, dans un autre une seule réaction se produit. Mais le résultat est toujours le même : c'est, aussi bien que dans la tuberculose, la destruction ou l'élimination des germes de l'organisme déjà contaminé et par là, devenu sensible au point de vue allergique.

Les réactions allergiques sont depuis ces derniers temps souvent recommandées pour le diagnostic. Nous avons nous-mêmes préparé un allergène pour nos réactions, avec des bacilles de Bang tués à 70°. Une culture de quarante-huit heures sur gélose est émulsionnée dans 10 cent. cubes de solution physiologique. Cette émulsion est diluée mille fois. 0 c.c. 10

cette dilution représente la dose nécessaire pour la réaction. L'allergène ainsi préparé, essayé sur des personnes saines, des typhiques, des tuberculeux et des syphilitiques, ainsi que sur des personnes infectées par le bacille de Bang, s'est montré

spécifique (v. tableaux III et V). Les réactions sont parfaitement nettes, elles consistent en un érythème et un œdème locaux apparaissant dès la vingt-quatrième heure, subsistant quelques jours et assez douloureux. Une réaction plus forte peut amener une nécrose locale. Certains auteurs indiquent que ces phénomènes sont souvent accompagnés de symptôme généraux, en particulier d'une hausse de température. Dans nos cas, nous n'avons pas remarqué de phénomènes généraux.

TABLEAU V. — Résultats obtenus par la réaction allergique essayée sur des personnes typhiques, tuberculeuses et syphilitiques.

CAS	NOMBRE de cas	RÉSULTATS				OBSERVATION
		positifs	p. 100	négatifs	p. 100	
Typhiques . .	11			11	100	Russe des environs d'Odessa; il mentionne avoir été atteint de fièvre récurrente, ce qui n'exclut pas la possibilité d'une infection par le bacille de Bang.
Syphilitiques .	10			10	100	
Tuberculeux .	18	1	5,55	17	94,44	

Nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes de notre exposé.

1° L'infection de l'homme par le bacille de Bang existe dans notre pays. Elle est surtout fréquente dans les centres où cette maladie frappe le bétail.

2° Cette infection apparaît surtout sous une forme latente. Même dans les centres contaminés, nous n'avons pu relever aucun cas aigu.

3° Il est difficile de répondre à la question de savoir pourquoi cette maladie apparaît chez nous principalement sous une forme latente. A notre avis, l'explication la plus vraisemblable est que le premier contact n'a été ni très massif, ni très virulent. Des germes faiblement virulents, introduits en petites quantités n'ont pu provoquer dans l'organisme que des réactions d'immunisation et de prémunition, et non pas des cas cliniques.

4° Nous avons fait des expériences à l'aide de réactions d'agglutination et de réactions allergiques. Ces réactions, au point de vue de leur *spécificité* se sont montrées *suffisamment sûres* pour qu'on puisse se fonder sur leurs résultats pour le diagnostic de l'infection de l'homme par le bacille de Bang.

## BIBLIOGRAPHIE

- BURNET (E.), Congrès international d'Hygiène méditer., 1933.
- BÖRMER (K.), Bang-Infektion des Menschen. *Ergebn. d. Hyg.*, **13**, 1932.
- FRIDRICH (A.), LENTZE, *Zbl. f. Bakter.*, **118**, 1930, p. 360.
- HERMAN (K.), *Srpski archiv.*, **32**, 1930, p. 771.
- HUDDLESON (F.), *Archives de l'Inst. Pasteur de Tunis*, **19**, 1930, p. 391.
- KNOTH (M.), *Deutsch. Tier. Woch.*, 1930.
- KRISTENSEN : Undersøgesler over den Bangske abortbacils rolle sammen-  
neskepathogen mikrob. *Ugeskr. laeg.*, **89**, 1927, p. 1123 ; Febris undu-  
lans in Dänemark. *Seuchenbekämpfung*, **7**, n° 130, 1930, p. 350.
- MAKKAWEJSKY (N. N.) et KARADINOWSKY (J. A.), *Deutsche Tierarztl. Woch.*,  
n° 24, 1930.
- MEISEL (H.), *C. R. Soc. de Biol.*, **104**, 1930, p. 534.
- POPPE, Der infektiöse Abortus des Rindes. *Handbuch der pat. Mikroorg.* 3. Aufl.  
1928. Ueber die Bang-Infektion. *Münch. med. Woch.*, **76**, 1929, p. 703.
- PROSCHOLDT, Zum Nachweis von Abortus-Bang-Bat., *Milch. Z. Fleisch.*, u.  
*Michthykt*, **39**, 1929, p. 277.
- SIMIC et DJURISIC : Bangova infekcija u Jugoslaviji kod goveda. *Yugosl. Veter.*  
*Glosnik str.*, **1**, 1936.
- THOMSEN (A.), *Rev. Gen. Med. Veter.*, **42**, 1932, p. 597.
- VRTOVEC, Infekcija coveka z bakterium abortus (Bang) v Sloveniji. *Zdravniški*  
*Vestnik leto*, **11**, 1930, p. 7.
- KAMADA, *Zbl. Bacter. Orig.*, **120**, 1931, p. 364.



## COLORATION DES CILS BACTÉRIENS PAR UN PROCÉDÉ SIMPLE

par SERGE LEVENSON.

(*Institut Pasteur, Laboratoire de M. Weinberg.*)

Malgré le nombre assez considérable de méthodes préconisées, la coloration des cils bactériens reste toujours la plus difficile parmi toutes les colorations employées en bactériologie. Ceci s'explique en partie par la grande délicatesse et la fragilité des cils. D'autre part, bien des méthodes préconisées pour la coloration des cils sont ou bien très compliquées, ou bien peu sûres.

Parmi les méthodes simples et donnant de bons résultats, il y en a une qui, élaborée par Casares-Gil il y a plus de vingt ans, est restée d'abord complètement inaperçue. Deux ans plus tard (1915), notre maître, M. le professeur D<sup>r</sup> Bruno Galli-Valerio (Lausanne) a vivement recommandé cette méthode qu'il considère comme un procédé très simple, très pratique et donnant d'excellents résultats (1). Cependant, cette méthode reste toujours peu connue.

Au cours de nos recherches, nous avons pu constater les grands avantages de cette méthode et aussi quelques-uns de ses défauts. Nous nous sommes efforcés d'améliorer ce procédé et nous avons établi la technique permettant d'obtenir d'une façon simple et sûre des préparations de cils, en tenant compte surtout des conditions spéciales pour les microbes anaérobies. Enfin, nous avons toujours pratiqué également des colorations par la méthode de Löffler-Nicolle-Morax, afin de pouvoir comparer les résultats obtenus. Chaque souche étudiée a toujours été examinée (en tubes capillaires soudés, tant qu'il s'agissait des anaérobies), à l'état frais, du point de vue de sa mobilité.

(1) GALLI-VALERIO. *Zentralbl. f. Bakt.*, Orig. 76, 1915, p. 233.

## MÉTHODE DE CASARES-GIL.

On prépare le réactif suivant (solution mère) :

a) On dissout dans un mortier, dans 30 cent. cubes d'alcool à 70°, 10 grammes de tanin et 18 grammes de chlorure d'aluminium hydraté;

b) On dissout dans 10 cent. cubes d'eau distillée, en triturant très soigneusement dans un mortier, 10 grammes de chlorure de zinc et 1 gr. 5 de chlorhydrate de rosaniline (fuchsine). On verse ensuite, en remuant, goutte à goutte, la solution b dans la solution a.

La solution mère du mordant ainsi obtenue et non filtrée est gardée à l'abri de la lumière. Elle se conserve très longtemps (1). Avant l'emploi, on mélange rapidement dans un tube à essai 1 partie de la solution mère avec 4 parties d'eau distillée, on agite, on laisse reposer une minute environ.

La coloration des cils se fait de la façon suivante :

1° On verse, à travers le filtre, quelques gouttes de ce mordant dilué sur des préparations non fixées. On laisse agir jusqu'à la formation d'une mince couche à reflet métallique, d'après Galli-Valerio, une minute environ (nous laissons le mordant agir pendant deux minutes environ); 2° On lave rapidement à grande eau (sous le robinet); 3° On colore à la fuchsine phéniquée non diluée ou au bleu de méthylène, une à deux minutes; 4° On lave à l'eau; 5° On sèche à l'air.

La coloration au bleu de méthylène ne nous a pas satisfait, aussi n'employons-nous, pour ce procédé, que la fuchsine phéniquée.

Les grands avantages de la méthode de Casares-Gil consistent dans sa simplicité, dans la facilité des manipulations n'exigeant la connaissance d'aucun tour de main spécial, dans l'emploi de réactifs qui se conservent bien, et, enfin, dans le fait que toutes les manipulations se font à froid. Dans bien des cas, nous avons obtenu de très belles préparations. Les résultats étaient sensiblement les mêmes que ceux obtenus par la méthode de Loeffler qui est, à notre avis, moins simple, parce que, dans cette méthode, le mordantage et la coloration se font à chaud.

Cependant, la coloration est, à notre avis, assez faible. Lorsqu'il s'agit de microbes à cils très fins, on a quelquefois de la peine à les voir. Enfin, dans quelques cas, nous avons eu des échecs complets (comme d'ailleurs, avec la méthode de Loeffler aussi). C'est pourquoi nous avons essayé de modifier la méthode de Casares-Gil, afin d'obtenir une coloration plus intense des cils. Nous y sommes parvenus en remplaçant les colorants basiques par l'imprégnation à l'argent.

(1) GALLI-VALERIO. *Zentralbl. f. Bakt., Orig.*, 80, 1918, p. 270.

## MODIFICATION RECOMMANDÉE. — DÉTAILS DE TECHNIQUE.

**LAMES.** — Nous nous servons toujours de lames qui doivent être très propres et bien dégraissées. Nous employons le procédé suivant : les lames sont lavées pendant plusieurs heures à froid (ou une demi-heure à chaud) dans un mélange de bichromate de potassium et d'acide sulfurique, puis à l'eau courante. Elles sont ensuite séchées et gardées dans un mélange d'alcool-éther (ââ). Pour obtenir un bon étalement de l'émulsion bactérienne, il est d'ailleurs absolument indispensable de flamber les lames avant l'emploi, en les passant deux ou trois fois dans la flamme du bec Bunsen.

**ÂGE DES CULTURES.** — Pour obtenir la coloration des cils, il faut employer des cultures jeunes. D'après nos observations, il n'y a pas de règle générale quant à l'âge des cultures, la vitesse du développement étant différente suivant l'espèce microbienne. Si, en effet, nous sommes arrivé à colorer les cils de la plupart des bactéries en employant des cultures de 16 à 20 heures, il n'en fut pas de même, par exemple, pour le *B. bifementans*, comme nous l'avons montré dans une publication antérieure. Pour ce microbe, il faut employer des cultures de 3-4 heures.

Nous conseillons de procéder à la coloration des cils dès que le milieu devient suffisamment trouble. En effet, la culture doit être à la fois jeune et abondante : jeune, pour renfermer les éléments les plus mobiles ; abondante, afin qu'on puisse la diluer le plus fortement possible pour éviter une trop grande quantité de particules du milieu qui fixent la matière colorante et rendent la préparation moins propre.

Nous insistons sur l'importance du contrôle de la mobilité des microbes par l'examen à l'état frais (pour les anaérobies, en tubes capillaires soudés). On arrive ainsi facilement à établir pour chaque espèce microbienne, le moment précis où l'on peut procéder utilement à la coloration des cils. D'autre part, si, à l'état frais, on constate l'absence totale de mobilité, il est inutile d'essayer de colorer les cils.



ÉMULSIONS BACTÉRIENNES. — Pour les émulsions bactériennes, nous employons de préférence l'eau physiologique, mais on peut employer aussi l'eau distillée et même, comme le préconisent quelques auteurs, l'eau de robinet.

Lorsqu'il s'agit des aérobies, on peut préparer les émulsions bactériennes en se servant de jeunes cultures sur gélose inclinée. Par contre, pour les anaérobies, nous nous servons toujours de cultures en milieux liquides (le plus souvent en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000, en tubes de Hall; quelques cas spéciaux, dans lesquels nous nous sommes servi d'autres milieux liquides, seront indiqués plus loin).

Nous procédons, pour les anaérobies, de la façon suivante. Dans des tubes à hémolyse (ou dans des verres de montre, ce qui est moins commode), nous mettons VIII à X gouttes d'eau physiologique. Lorsqu'on se sert de cultures qui viennent de sortir de l'étuve, il est à recommander, afin d'éviter un changement brusque de température, de garder les tubes avec la quantité d'eau indiquée quinze à vingt minutes à l'étuve. Au moyen d'une pipette Pasteur, on introduit dans chaque tube I goutte de culture. Si les cultures sont peu abondantes, nous nous servons des émulsions ainsi obtenues pour faire les étalements. Par contre, si les cultures sont abondantes (ce qui est toujours plus avantageux), nous mettons une grosse goutte d'eau physiologique sur une lame propre, mais non flambée. Nous introduisons dans cette goutte 1, 2, 3 anses de notre première émulsion (suivant l'abondance de la culture). Après avoir obtenu la dilution voulue, nous faisons les étalements sur des lames au moyen d'une petite anse de platine, en prenant soin de frotter le moins possible. Les frottis sont ensuite séchés à l'air (autant que possible, à l'étuve).

Nous déconseillons très vivement l'emploi de la centrifugation, vu que les cils sont très souvent arrachés par la centrifugation même très courte. Nous en donnerons plus loin quelques exemples. D'autre part, le procédé de sédimentation, après addition de formol, exige beaucoup de temps (une semaine environ), et les résultats que nous avons obtenus par ce procédé n'étaient pas très bons. Nous préférons donc le procédé des fortes dilutions que nous venons de décrire.

RÉACTIFS. — *a)* Le mordant de Casares-Gil, tel que nous l'avons déjà décrit; *b)* Solution aqueuse de nitrate d'argent additionnée d'ammoniaque jusqu'à ce que le précipité se redissolve en faisant place à une opalescence légère, mais nette (solution de Fontana). Nous employons une solution de nitrate

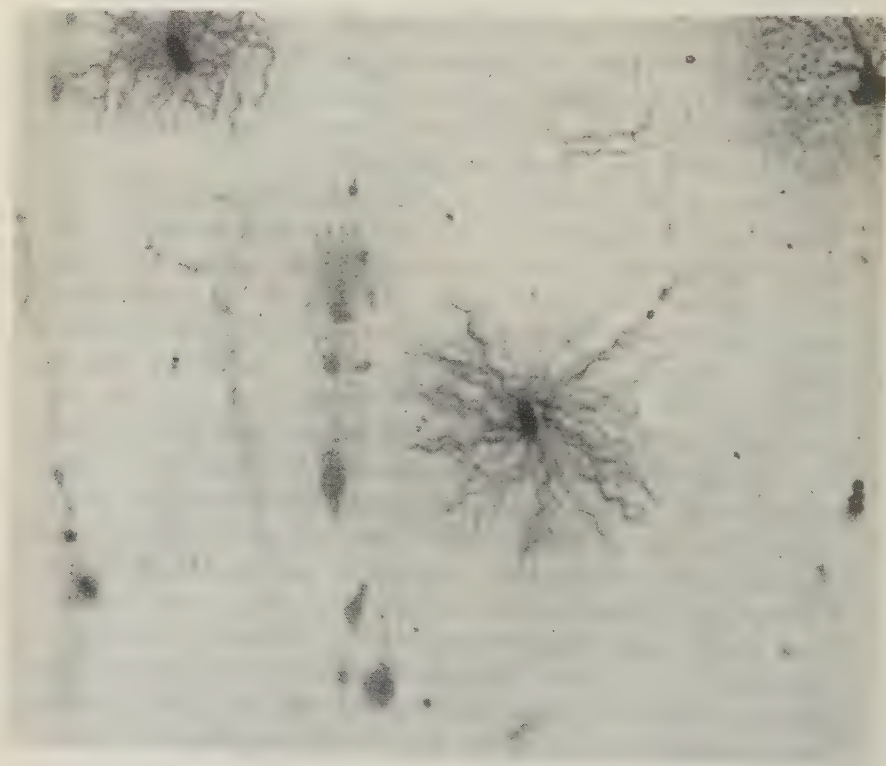


FIG. 1. — Cils du *B. botulinus*, type B. Culture de dix-huit heures.  
Grossissement : 1.800.

d'argent à 2 p. 100. On arrive plus facilement à préparer la solution de Fontana en employant de l'ammoniaque diluée au 1/3 (1). Si toutefois on dépasse la limite et que le liquide devienne limpide, on ajoute de la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une opalescence nette. La solution de Fontana doit être chaque fois fraîchement préparée.

(1) JORDAN, CALDWELL and REITER. *Journ. of Bacteriology*, 27, 1934, p. 165.

COLORATION. — 1° Mordancer (à froid) les préparations non fixées avec le réactif de Casares-Gil dilué à 1/4 pendant deux minutes environ; 2° Laver à grande eau; 3° Rincer à l'eau distillée; 4° Verser sur les préparations quelques gouttes de la solution de Fontana, faire agir pendant quelques secondes en chauffant doucement sur la veilleuse du bec Bunsen jusqu'à émission de vapeurs; 5° Laver rapidement à l'eau distillée; 6° Sécher à l'air, autant que possible à l'étuve, en inclinant les lames; ne jamais sécher entre des feuilles de papier-filtre;

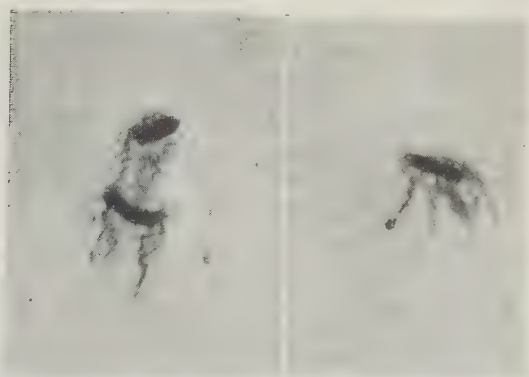


FIG. 2. — Cils du *B. difficilis* (Hall et O'Toole). Culture de quinze heures à 30°. Grossissement : 1.800.

7° Monter au baume. Si l'on est pressé, on peut examiner les préparations rapidement avant de les avoir montées au baume. Dans ce cas, il faut ensuite les laver immédiatement très soigneusement au xylol, afin de les débarrasser complètement de l'huile de cèdre, et, après dessiccation, les monter au baume. Les préparations montées au baume sont séchées à l'étuve pendant deux à quatre jours. On ne les examine à l'immersion qu'à lorsque le baume est desséché. On les garde à l'abri de la lumière.

Nous ne faisons pas de décoloration de fond, cette manipulation rendant la coloration des cils très difficile et peu sûre. Mais, malgré la coloration du fond, on trouve dans chaque préparation des parties propres et nettes, très souvent photographiables.



MATÉRIEL EXAMINÉ. — Nous avons examiné, comparativement par les trois méthodes (méthode originale de Casares-Gil, notre modification et méthode de Loeffler) les microbes suivants : *Aérobies* : *B. proteus*, *B. subtilis*, *B. pyocyaneus*, *B. coli*. *Anaérobies* : Vibrion septique, *B. sporogenes*, *B. œdematiens* (8 souches), *B. chauvoei* (3 souches), *B. botulinus* (types A, B, C et D), *B. tetani* (6 souches), *B. tertius*, *B. sphenoides*, *B. cochlearius*, *B. difficilis* (2 souches), *B. aerofœtidus* (2 souches), *B. lento-*

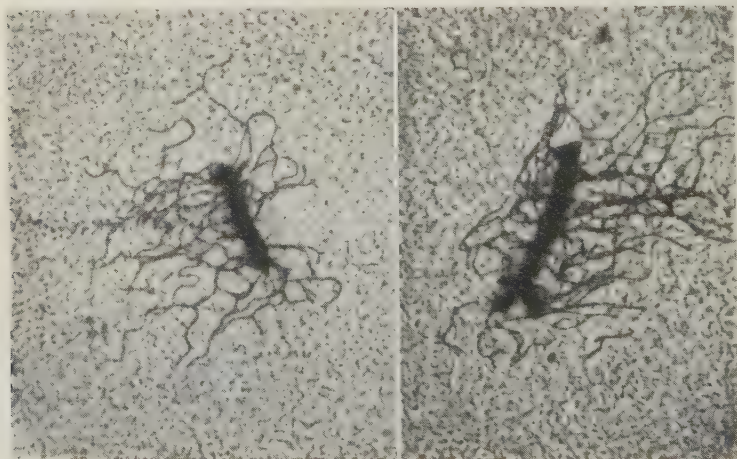


FIG. 3. — Cils du *B. bifermentans*. Culture de trois heures.  
Grossissement : 4.800.

*putrescens* (2 souches), *B. bifermentans* (10 souches), *B. histolyticus* (4 souches), *B. Sordellii*, *B. hæmolyticus bovis*, *B. centrosporogenes*, *B. parasporogenes*, bacille de l'« *osteomyelitis bacillosa bubalorum* » (Kraneveld 1930), *B. de Reading*, *Cl. flabelliferum*.

QUELQUES OBSERVATIONS. — Au cours de nos recherches, nous avons fait les constatations suivantes :

La fragilité des cils varie d'une façon frappante non seulement d'une espèce bactérienne à l'autre, mais aussi suivant la souche de la même espèce. Ainsi, le V. septique et le *B. sporogenes* ont gardé leurs cils après la centrifugation (huit à dix minutes). Par contre, la coloration des cils de toutes les sou-

ches examinées du *B. tetani* et du *B. botulinus* était impossible, aucune de ces souches ne supportant la centrifugation. Dès que nous avons supprimé la centrifugation, en procédant comme il est indiqué plus haut, nous avons obtenu d'emblée des préparations de bâtonnets munis de cils nombreux (fig. 1), tant qu'il s'agissait de souches ayant gardé la mobilité. D'autre part, nous avons pu facilement colorer les cils des 8 souches de *B. œdematiens*, en employant le procédé de fortes dilutions. Par contre, ces souches de *B. œdematiens* se comportaient

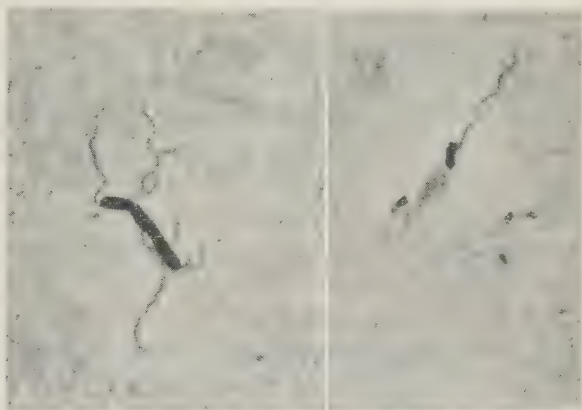


FIG. 4. — Cils du *B. leniutrescens* (Hartsell et Rettger).  
Culture de vingt-quatre heures. Grossissement : 1.800.

d'une façon très différente vis-à-vis de la centrifugation : les souches « 128 » et « Debonera » supportaient très bien la centrifugation, les souches « Kreguer » et « Lard » la supportaient moins bien, tandis que les autres souches la supportaient mal ou ne la supportaient pas du tout.

DISCUSSION DES RÉSULTATS. — Dans bien des cas, nous avons obtenu une coloration nette des cils par les trois procédés, quoique la coloration obtenue par le procédé que nous préconisons fût toujours la plus intense et la plus nette. Cependant, dans quelques cas la différence entre les résultats obtenus suivant la méthode était encore plus grande. Ainsi, nous n'avons pu obtenir par la méthode originale de Casares-Gil et par la

méthode de Lœffler qu'une coloration très faible, parfois à peine visible, des cils de quelques microbes (par exemple *B. Sordellii*). Les 2 souches examinées du *B. difficilis* ont présenté des cils nettement imprégnés par la méthode que nous préconisons (fig. 2). La coloration par la méthode originale de Casares-Gil était tellement faible qu'on n'était pas sûr que ce fussent vraiment des cils, et enfin, par la méthode de Lœffler nous n'avons pas réussi à colorer les cils de ce microbe. Pour le *B. aerofœtidus* souche « Kr. » (culture de quinze heures environ à 30°), nous avons obtenu une coloration très nette par notre procédé, une coloration nette, mais pâle, par la méthode originale de Casares-Gil; par la méthode originale de Lœffler, nous n'avons pas obtenu de coloration. Comme nous l'avons déjà dit ailleurs (1), nous avons pu facilement colorer les cils des souches fraîchement isolées du *B. bifementans* (souches « Nigoul » et « Ovari ») (fig. 3). Par contre, pour les vieilles souches de collection, nous ne sommes arrivé au but qu'avec notre procédé. Le même cas se produisit avec le *B. lentoputrescens* et avec une souche du *B. coli*.

La coloration des cils réussit souvent d'emblée. Mais, dans certains cas, elle est assez difficile, soit à cause de la finesse et de la fragilité très grandes des cils (par exemple *B. sphenoides*), soit parce que le microbe en question pousse très lentement (par exemple *B. lentoputrescens*). Pour le *B. sphenoides*, nous avons obtenu de meilleurs résultats, en utilisant des cultures en bouillon non sucré. Quant au *B. lentoputrescens* (fig. 4), nous sommes parvenu à obtenir une culture suffisamment abondante, en nous servant de tubes de bouillon non sucré, contenant un cube de blanc d'œuf et un morceau de craie (c'est à notre collègue, M<sup>lle</sup> A. Kreguer, que nous devons le conseil d'employer ce procédé).

En résumé, nous avons pu obtenir, par le procédé que nous préconisons, des préparations de cils de tous les microbes examinés, tant qu'ils étaient mobiles.

(1) LEVENSON. *C. R. Soc. Biol.*, 121, 1936, p. 221.



## CONCLUSIONS.

1° Le mordant de Casares-Gil est un réactif très précieux pour la mise en évidence des cils bactériens;

2° La méthode originale de Casares-Gil est un bon et très simple procédé, donnant dans bien des cas de bons résultats;

3° En remplaçant les colorants basiques par l'imprégnation à l'argent, on obtient un procédé plus sûr et donnant des préparations beaucoup plus nettes.

Nous tenons à exprimer ici notre profonde reconnaissance à notre maître, M. Weinberg, dont la bienveillance a facilité nos recherches. Nous remercions aussi très cordialement M. Jeantet, Chef du service de micrographie de l'Institut Pasteur, qui s'est donné la peine de faire, d'après nos préparations, de belles photomicrographies.

# **TENEURS COMPARATIVES EN SOUFRE ET EN PHOSPHORE DE PLANTES CULTIVÉES SUR LE MÊME SOL**

par GABRIEL BERTRAND et LAZARE SILBERSTEIN.

Les résultats que nous avons présentés au cours des années précédentes n'ont pas seulement apporté une preuve expérimentale directe de l'importance qualitative du soufre dans le développement des plantes [1], ils ont permis de se faire une première idée de l'importance quantitative de cet élément par rapport à celle de phosphore, c'est-à-dire à celle d'un élément dont la valeur nutritive est aujourd'hui pratiquement reconnue partout en Agriculture [2].

En nous plaçant dans des conditions expérimentales très strictes et en utilisant une méthode de dosage particulièrement précise, nous avons trouvé, à l'encontre de ce que pensaient beaucoup d'agronomes, que les proportions de soufre contenues dans la matière végétale et emportées par les récoltes sont loin d'être négligeables et dépassent même assez souvent celles du phosphore. Ainsi, en dosant les deux métalloïdes dans la partie aérienne de plantes récoltées au moment de la floraison, le rapport soufre/phosphore a oscillé de 0,34 (dans le sarrazin) à 1,56 (dans le colza).

Nous nous sommes demandé comment varierait ce rapport dans une série de plantes d'espèces différentes cultivées sur le même sol, autrement dit, comment se comporteraient ces plantes, chacune selon son espèce et ses besoins physiologiques, vis-à-vis d'un milieu de même composition au point de vue des éléments soufre et phosphore. Et, pour que les résultats obtenus soient plus immédiatement applicables à l'Agriculture, nous avons fait porter nos recherches sur des plantes maraîchères ou de grande culture. Trente-sept espèces ont été choisies et semées, à la fin du mois de mars de l'année 1935, sur une parcelle de terre de jardin que l'on était en droit de sup-

poser homogène en toutes ses parties. Cette parcelle avait été divisée au préalable en autant de rectangles qu'il y avait d'espèces végétales, chaque rectangle ayant une surface d'environ un quart de mètre carré. La terre n'avait pas reçu d'engrais depuis plusieurs années et a été laissée telle quelle. Au fur et à mesure de leur développement et au cours de celui-ci, les plantes ont reçu les soins habituels. On a arrosé autant de fois que cela a été nécessaire pour maintenir les cultures en bon état.

Les espèces annuelles ont été récoltées au moment où elles épanouissaient leurs premières fleurs et ont été soumises aussitôt à l'analyse chimique. Quant aux espèces bisannuelles, il s'en est trouvé deux : le chou et la betterave, qui ont fourni quelques pieds en fleurs ; des autres on a prélevé, pour l'analyse, avant la floraison, le poireau et la carotte.

Comme on devait s'y attendre, toutes les espèces sur lesquelles ont porté les nouvelles recherches ne se sont pas développées d'une façon égale. La plupart ont bien prospéré, mais certaines sont restées chétives, quelques-unes même ont à peine poussé. C'est ainsi que le lupin jaune, qui cependant a fleuri, n'a pas dépassé une quinzaine de centimètres et portait des feuilles très pauvres en chlorophylle ; que le cerfeuil était un peu maigre et de coloration jaunâtre ; enfin, que le riz, l'oseille, le persil et le lupin bleu ont dû être laissés de côté pour insuffisance ou arrêt de développement [3].

Finalement, nous avons récolté et analysé comparativement vingt-neuf des espèces végétales mises en culture. A ces espèces, nous avons ajouté la petite ortie, l'euphorbe réveil-matin, la morelle noire et le tabac rustique, qui s'étaient développés spontanément sur le même sol et qui se trouvaient en très bon état au moment de leur floraison.

Avant l'analyse, les échantillons ont été lavés à plusieurs eaux, mais très rapidement, puis essuyés avec du papier à filtre. On les a ensuite divisés et on en a pesés trois portions de 10 grammes : une pour le dosage de la matière sèche, les deux autres pour les dosages immédiats, à l'état frais, du soufre et du phosphore. Pour que ces trois portions soient aussi semblables et, en même temps, aussi représentatives que possible des espèces étudiées, on a opéré, quand ces espèces étaient de petite



taille, sur plusieurs individus à la fois dont les morceaux étaient bien mélangés et, quand ces espèces étaient de grande dimension, sur des mélanges de parties aliquotes de tiges, de feuilles et d'inflorescences. Encore a-t-on pris soin dans le cas du maïs, par exemple, de diviser d'abord ces organes suivant des plans parallèles à leur axe ou à leur nervure principale.

Les méthodes de dosage utilisées ont été celles que nous avons décrites et appliquées dans nos recherches antérieures [4].

Nous donnons, dans l'ordre croissant des rapports soufre-phosphore, les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU.

NOMS DES PLANTES EXAMINÉES	MATIÈRE	MATIÈRE SÈCHE p. 100		RAPPORT
	sèche			Soufre
	p. 100	Soufre	Phosphore	Phosphore
Epinard ( <i>Spin. ol. L.</i> ) . . . . .	10,78	0,306	0,812	0,377
Cerfeuil ( <i>Anthr. cerf. Hoffm.</i> ) . . . . .	15,00	0,304	0,633	0,480
Seigle ( <i>Sec. cer. L.</i> ) . . . . .	17,54	0,257	0,492	0,532
Pois ( <i>Pisum sat. L.</i> ) . . . . .	13,20	0,286	0,511	0,560
Froment ( <i>Trit. sat. L.</i> ) . . . . .	27,72	0,260	0,410	0,633
Maïs ( <i>Zea mays L.</i> ) . . . . .	19,25	0,149	0,234	0,636
Haricot d'Espagne ( <i>Phas. sat. L.</i> ) . . . . .	15,91	0,256	0,385	0,666
Mâche ( <i>Valer. olit. Poll.</i> ) . . . . .	12,59	0,508	0,735	0,691
Orge ( <i>Hord. Vulg. L.</i> ) . . . . .	22,09	0,284	0,362	0,785
Lentille ( <i>Erv. lens. L.</i> ) . . . . .	21,61	0,373	0,457	0,816
Ortie ( <i>Urt. ur. L.</i> ) . . . . .	11,92	0,623	0,750	0,830
Trèfle violet ( <i>Trif. prat. L.</i> ) . . . . .	22,66	0,203	0,243	0,835
Sainfoin ( <i>Onob. sat. Lamk.</i> ) . . . . .	27,13	0,238	0,281	0,846
Pois chiche ( <i>Cic. ariet L.</i> ) . . . . .	24,36	0,346	0,400	0,865
Euphorbe réveil-matin ( <i>Euph. hel. L.</i> ) . . . . .	14,63	0,334	0,376	0,887
Soja ( <i>Soja hisp. Moench.</i> ) . . . . .	26,18	0,230	0,258	0,892
Trèfle incarnat ( <i>Trif. inc. L.</i> ) . . . . .	16,57	0,315	0,317	0,994
Pissenlit ( <i>Tarax off. Wiggers.</i> ) . . . . .	27,06	0,370	0,351	1,052
Pavot [OEillette] ( <i>Pap. somm. L.</i> ) . . . . .	11,38	0,662	0,626	1,058
Betterave ( <i>Beta vulg. L.</i> ) . . . . .	10,49	0,534	0,489	1,092
Trèfle blanc ( <i>Trif. rep. L.</i> ) . . . . .	23,26	0,316	0,269	1,178
Morelle noire ( <i>Sol. nig. L.</i> ) . . . . .	11,36	0,545	0,440	1,238
Lupin jaune ( <i>Lup. lut. L.</i> ) . . . . .	14,74	0,835	0,628	1,331
Plantain long ( <i>Plant. lanc. L.</i> ) . . . . .	15,43	0,623	0,389	1,601
Carotte ( <i>Dauc. car. L.</i> ) . . . . .	18,93	0,628	0,363	1,729
Navet ( <i>Brass. nap. L.</i> ) . . . . .	10,76	1,494	0,848	1,762
Poireau ( <i>All. porr. L.</i> ) . . . . .	9,29	0,874	0,431	2,030
Moutarde noire ( <i>Sin. nig. L.</i> ) . . . . .	18,76	0,879	0,420	2,092
Chicorée ( <i>Cich. intyb. L.</i> ) . . . . .	11,96	1,089	0,502	2,170
Radis ( <i>Raph. sat. L.</i> ) . . . . .	12,08	1,175	0,538	2,183
Moutarde blanche ( <i>Sin. alba L.</i> ) . . . . .	12,84	1,314	0,545	2,410
Tabac rustique ( <i>Nic. rust. L.</i> ) . . . . .	9,29	0,951	0,309	3,077
Chou ( <i>Brass. oler. L.</i> ) . . . . .	11,25	1,919	0,477	4,021

Ces résultats rendent plus manifeste encore que les précédents l'importance du soufre comparée à celle du phosphore dans le développement des végétaux, puisque le rapport du premier au second de ces éléments est égal ou supérieur à l'unité dans la moitié des cas et que, sans descendre au-dessous de 0,38 il s'élève dans la nouvelle série non seulement à 1,7 mais jusqu'à 2 ou 3 et même jusqu'à 4.

Ces résultats montrent aussi que les teneurs si différentes des espèces végétales en soufre et en phosphore ne dépendent pas exclusivement de la composition variable des sols, qu'elles dépendent encore, si ce n'est surtout, des besoins physiologiques de ces espèces et de leur aptitude à les satisfaire [5].

Il est remarquable, à ce point de vue, de constater que, tandis que certaines plantes n'ont pas fixé plus de 0,15 ou 0,20 de soufre p. 100 de leur matière sèche, d'autres ont atteint, sur le même sol, jusqu'à 4,9 p. 100, soit environ dix fois davantage, alors qu'à côté, sans parallélisme entre la fixation du soufre et du phosphore, le dernier a varié de 0,24 à 0,85 p. 100.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] *Ces Annales*, 50, 1933, p. 344.
- [2] *C. R. Acad. des Sc.*, 189, 1929, p. 1045 ou *Ann. Sc. agr.*, 47, 1930, p. 324.
- [3] Nous n'avons pu récolter non plus l'oignon, la ciboule et la ciboulette que deux orages de grêle avaient complètement saccagés.
- [4] *C. R. Acad. des Sc.*, 189, 1929, p. 886, ou *Ann. Sc. agr.*, 47, 1930, p. 319. Pour le dosage du phosphore, il a été reconnu que l'acide nitreux (résultant de la réduction partielle des nitrates au moment de la fusion) gêne le virage final et nuit au dosage, surtout quand il y a très peu de métalloïde. On évite cet inconvénient de la façon suivante : la solution provenant du traitement par l'eau de la masse fondue est additionnée de 20 cent. cubes d'acide chlorhydrique puis évaporée à sec au bain-marie. On reprend par l'eau, on ajoute 7 cent. cubes d'une solution d'acétate de sodium au dixième dans l'acide acétique à 5 p. 100, on sépare la silice par filtration ou centrifugation, on amène le liquide à 100-125 cent. cubes et on titre à l'urane.
- [5] Voir à ce sujet GAB. BERTRAND et V. GHITESCU, *C. R. Acad. des Sc.*, 199, 1934, p. 1269.

## IMMUNISATION CONTRE LA DIPHTÉRIE PAR UNE SEULE INJECTION D'ANATOXINE PRÉCIPITÉE

par BRONISLAVA PALANT, ANNA GORDINE et M. MITELMAN.

*(Institut Metchnikoff de l'Ukraine.*

Directeur-professeur : M. MELNIK.)

Dans notre première communication (Melnik, Palant et Mitelman), nous avons conclu à l'innocuité et à la réactivité modérée de l'anatoxine précipitée aussi qu'à sa forte capacité immunisante. Nos essais ultérieurs d'application unique de cette préparation, effectués sur de nombreux groupes d'enfants, au cours des années 1933-1934, ont pleinement confirmé nos premières conclusions. Pendant ce temps furent publiés nombre de travaux signalant la possibilité d'obtenir l'effet immunisant au moyen d'une seule injection de préparations de haute valeur antigène, ainsi que l'élévation de la propriété immunisante des anatoxines par l'addition d'alun.

Ainsi, Spassky et Odrine ont réussi à rendre la réaction de Schick négative, dans 100 p. 100 des cas, au moyen d'une injection unique d'anatoxine récupérée d'après la méthode de Ramon.

R. Zajdel affirme qu'une seule injection d'anatoxine concentrée par la méthode d'ultrafiltration jusqu'à 35-40 U. F. est plus efficace que la double vaccination avec un antigène 25-30 U. F.

Lounine et Handelman, qui ont appliqué l'anatoxine concentrée jusqu'à 35-450 U. F., signalent qu'elle est efficace de 87 à 100 p. 100.

Les travaux de Léonard, Varley et Holm, démontrent une forte augmentation d'efficacité des préparations immunisantes contre la diphtérie, après l'addition d'alun.

Des faits analogues sont présentés par Saunders, Zajdel, Gorokhovnikova et Vagner-Sakharova, White et Schlageter.

Enfin, Kossareff et Seidel, dans leur travail publié en 1932,



que nous avons omis de citer dans une communication précédente, constatent l'accroissement de l'efficacité immunisante de l'anatoxine précipitée par l'addition de sulfate d'aluminium (0,3-0,6 p. 100), et la possibilité d'obtenir 47-83 p. 100 de résultats efficaces chez les enfants immunisés par une seule injection de telles préparations.

En juillet 1934, fut publié dans *The Journal of the American Medical Association*, le travail de Walker, résumant les résultats de l'immunisation de nombreux groupes d'enfants par l'anatoxine précipitée au moyen de l'alun. Après avoir cité les résultats de milliers de vaccinations, effectuées dans l'État d'Alabama, où l'immunisation par l'anatoxine précipitée est réglementée par le département de la Santé publique, Walker présente ses observations personnelles. Ayant vacciné 305 enfants, âgés de sept à douze ans, par une seule injection de 1 cent. cube d'alun-toxoïde, il obtint en quatre à cinq mois, le virage de la réaction de Schick de positive en négative dans 100 p. 100 des cas. Puis, ayant soumis 1.950 enfants, âgés de un à douze ans (principalement de un à sept ans), à la vaccination unique, il a obtenu 100 p. 100 d'efficacité, d'après l'épreuve de Schick. L'auteur insiste sur ce fait que, deux semaines après une seule injection de 1 cent. cube d'alun-toxoïde, 60 p. 100 des enfants ont présenté une réaction négative et que ce taux a monté jusqu'à 100 p. 100 du quatre-vingt-dix au quatre-vingt-quinzième jour.

Park a obtenu 90 à 95 p. 100 de résultats efficaces en quatre à cinq mois, par la vaccination unique avec 1 cent. cube d'alun-toxoïde des enfants d'âge scolaire. Il affirme que l'immunisation au moyen d'alun-toxoïde est deux fois supérieure à celle obtenue avec l'anatoxine ordinaire et que cette préparation va supplanter tous les autres antigènes diphtériques.

Notre travail avait pour but : 1° la vérification expérimentale de l'efficacité élevée des préparations à l'alun sur les animaux et 2° un large essai d'immunisation active contre la diphtérie par une seule injection de 1 cent. cube d'anatoxine précipitée.

Les observations expérimentales sur les animaux de laboratoire sont résumées dans les tableaux I, II, III. Le tableau I présente les données qui caractérisent la propriété immunisante des préparations à l'alun. Un lot de cobayes, de 300 à

350 grammes du poids, fut immunisé par une injection de 1 cent. cube d'anatoxine diphtérique, de 14 et 6 U. F.; un autre lot de cobayes reçut 1 cent. cube de la même anatoxine, précipitée par différentes proportions d'alun et diluée dans l'eau physiologique jusqu'au volume initial. Après trois semaines, l'immunité des animaux fut éprouvée par la réaction de Schick, d'après le titre antitoxique de leur sérum ainsi que d'après leur résistance vis-à-vis de fortes doses de toxine diphtérique.

TABLEAU I. — Influence de l'alun  
sur l'augmentation de la valeur antigène des anatoxines.

NUMÉROS des cobayes	TAUX D'ALUN	TITRE ANTIGÉNIQUE des anatoxines (U.F.)	RÉACTION DE SCHICK après 3 semaines	TITRE ANTITOXIQUE de sérum (U.A.)	DOSES de toxine injectée (Dlm.)	RÉSULTATS
121 . . . . .	0	14	Positive.			
133 . . . . .	0	6	Positive. (négative en 6 mois).		400	Mort le 2 <sup>e</sup> jour.
132 . . . . .	0	6	Négative.	< 0,1	400	Mort le 2 <sup>e</sup> jour.
105 . . . . .	0,5	11	Négative.		500	Mort le 9 <sup>e</sup> jour.
107 . . . . .	0,75	11	Négative.	< 0,1	400	Vivant.
108 . . . . .	1	13	Négative.	> 0,2	500	Mort le 13 <sup>e</sup> jour.
109 . . . . .	1	13	Négative.	4 (en 2 mois).	1.000	Mort le 9 <sup>e</sup> jour.
110 . . . . .	1,5	11	Négative.	> 0,2	500	Vivant.
112 . . . . .	2	11	Négative.	0,2	500	Vivant.
113 . . . . .	2	11	Négative.	0,3	1.000	Vivant.
115 . . . . .	2,5	11	Négative.	< 0,2	500	Mort le 6 <sup>e</sup> jour.

Il ressort de ce tableau que l'addition d'alun aux anatoxines diphtériques fait monter leur efficacité antigénique. Ainsi, les cobayes 121, 123, ayant reçu un antigène de valeur moyenne, sans alun, ont montré en trois semaines une réaction de Schick positive et, en six mois, une réaction négative, mais ils n'ont pas résisté à 400 Dlm de toxine.

Le cobaye 132, injecté avec le même antigène sans alun, eut après trois semaines une réaction de Schick négative, mais il succomba le deuxième jour après l'introduction de 400 Dlm.

Par contre, les cobayes 105, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 115, vaccinés avec l'anatoxine de même valeur antigène, mais précipitée par différentes proportions d'alun, ont présenté après

trois semaines, une réaction de Schick négative et ont résisté à des doses massives de toxine diphtérique (jusqu'à 1.000 Dlm.), révélant jusqu'à 1 U. A. par 1 cent. cube de sérum.

Le tableau I montre en même temps une certaine élévation du pouvoir antigène de l'anatoxine en rapport avec l'augmentation du pourcentage d'alun additionné. Ainsi, le cobaye 107 ayant reçu l'anatoxine de valeur de 11 U. F., avec 0,75 p. 100 d'alun, fut déjà immun en trois semaines, présenta 0,1 d'unité antitoxique par 1 cent. cube de sérum et résista à 100 Dlm. Les cobayes 108, 109, 110, vaccinés par une anatoxine de même valeur, mais renfermant 1,5 p. 100 et 1 p. 100 d'alun, résistèrent à 500 et 1.000 Dlm de toxine, le titre de leur sérum atteignant 1 U. A. L'injection unique d'une anatoxine de même valeur antigène, mais précipitée par 2 p. 100 d'alun, conféra aux cobayes 112 et 113 une résistance complète à 500 et 1.000 Dlm de toxine dans un délai de trois semaines.

Nous avons cherché à expliquer le rôle de l'alun par l'élévation de la propriété immunisante de l'anatoxine. Dans ce but, un lot de cobayes furent injectés par groupes :

- 1° Avec 1 cent. cube d'alun à 2 p. 100 ;
- 2° Avec 1 cent. cube de bouillon Martin précipité par l'addition de 2 p. 100 d'alun ;
- 3° Avec 1 cent. cube d'anatoxine diphtérique de faible valeur antigène (0,5 — 3 U. F.) ;
- 4° Avec 1 cent. cube d'anatoxine de même valeur, précipitée par l'addition de différentes proportions d'alun.

Les résultats de cette expérience sont présentés dans le tableau II.

Le tableau II montre l'absence du pouvoir antigène spécifique de la solution d'alun aussi que du précipité non spécifique du bouillon Martin.

Ce tableau démontre également l'augmentation de la valeur antigène des anatoxines faibles après l'addition d'alun. Ainsi, le cobaye 116 vacciné par l'anatoxine de 1,2 U. F. présenta une réaction de Schick négative, après six mois seulement, et ne résista pas à 50 Dlm de toxine. L'addition de 2 p. 100 d'alun à une anatoxine de même valeur conféra aux cobayes 118 et 119 l'immunité, déjà en dix-neuf jours (réaction de Schick négative), et une résistance aux doses massives de toxine en



TABLEAU II. — Influence de l'alun  
sur l'augmentation du pouvoir antigène des anatoxines.

NUMÉROS des cobayes	TAUX D'ALUN p. 100	TITRE ANTIGÉNIQUE de l'anatoxine (U.F.)	RÉACTION DE SCHICK après 19 jours	RÉACTION DE SCHICK après 5 mois	TITRE ANTITOXIQUE de sérum (U. A.)	DOSES de toxine injectée (Dlm.)	RÉSULTATS
101	2	0	Positive.	Positive.			
117	2	0	Positive.	Positive.			
102	2	Bouillon Martin.	Positive.	Positive.			
103	2		Positive.	Positive.			
116	0	1,2	Positive.	Négative (en 6 mois).	< 1/20	50	Mort le 3 <sup>e</sup> jour.
118	2	1,2	Négative.	Négative.	> 1/5	500	Mort le 7 <sup>e</sup> jour (atypique).
119	2	1,2	Négative.	Négative.	1	500	Vivant.
138	0	3	Positive.	Négative (en 6 mois).	< 1/50	50	Vivant.
139	0	3	Positive.	Négative.			
145	1	3	Négative.	Négative.	> 1/2	1.000	Vivant.
146	1	3	Négative.	Négative.		500	Vivant.
134	0	1	Positive.	Négative.		100	Mort le 2 <sup>e</sup> jour.
135	0	1	Positive.	Négative.		50	Vivant.
140	1	1	Négative.		1/10		
136	0	0,5	Positive.				
137	0	0,5	Positive.				
142	1	0,5	Négative.	Négative.		500	Vivant.
143	1	0,5	Négative.	Négative.	1/2	500	Mort le 2 <sup>e</sup> jour (atypique).

six mois, le titre antitoxique de leur sérum atteignant 1 U. A.

L'injection d'anatoxine précipitée par 1 p. 100 d'alun, renfermant 3 U. F., conféra aux cobayes 145 et 146 l'immunité déjà en dix-neuf jours et une résistance à 500 et 1.000 Dlm de toxine en six mois.

L'addition d'alun aux antigènes de faible valeur (0,5 U. F.), élève leur propriété immunisante.

Ainsi, les cobayes 142, 143, ayant reçu l'anatoxine de 0,5 U. F. avec 1 p. 100 d'alun, ont eu une réaction de Schick négative déjà après dix-neuf jours et une résistance partielle ou totale à 500 Dlm de toxine après six mois.

L'injection aux cobayes de 1 cent. cube de précipité non spécifique du bouillon Martin, provoquait chez eux la formation d'une petite induration, non soudée à la peau, qui se résorbait très lentement. Ce précipité non spécifique ne produisait pas d'immunité chez les cobayes; mais la présence d'une quantité

TABLEAU III. — Influence de l'alun sur l'augmentation du pouvoir antigène des anatoxines.

NUMÉROS des cobayes	TITRE ANTIGÉNIQUE de l'anatoxine (U. F.)	SÉRIE D'ANATOXINE	RÉACTION DE SCHICK après 5 semaines	TITRE ANTITOXIQUE de sérum (U. A.)	DOSES de toxine injectée (Dlm)	RÉSULTATS
122	8	Liquide I.	Négative.	0,5	500	Mort le 14 <sup>e</sup> jour.
125	0	Liquide II.	Négative.	0,1	500	Mort le 5 <sup>e</sup> jour.
126	0	Liquide III.	Négative.		500	Vivant.
127	0	Liquide III.	Négative.	> 1	(en 5 mois). 1.000	Vivant.
128	7	Précipité II.	Négative.	1	1.000	Vivant.
130	0	Précipité III.	Négative.			
131	0	Précipité III	Négative.	1	1.000	Mort le 5 <sup>e</sup> jour (atypique).

minime d'antigène conférait au précipité la propriété immunisante. Ce fait est nettement démontré par le tableau III.

L'anatoxine, dont la valeur immunisante initiale était de 14 U. F., fut précipitée par l'addition de 0,5 p. 100 d'alun.

Le précipité fut éliminé par centrifugation et au liquide clair décanté (I), dont la  $Lf = 8$  U. F., fut ajouté 0,5 p. 100 d'alun. Le précipité obtenu de nouveau (II) renfermait 7 U. F. Le liquide II, séparé par une centrifugation soigneuse, ne donnait plus de réaction de floculation même avec des quantités minimales de sérum renfermant 1 U. A.

Avec le liquide II, on a obtenu le précipité III et le liquide III qui n'ont pas donné de réaction de floculation, malgré les épreuves plusieurs fois renouvelées.

Cependant, les cobayes 122, 125, 126, 127, 128, 130, 131 (voir tableau III) qui avaient reçu 1 cent. cube de ces précipités ou liquides dont la faible valeur antigène ne pouvait pas être dosée par la réaction de floculation, se montraient immuns en cinq semaines (réaction de Schick négative) et totalement ou en partie résistants aux doses fortes de toxine diphtérique (1.000 Dlm). Plusieurs cobayes ont gardé leur résistance à la toxine spécifique pendant cinq mois.

Ainsi, les expériences sur des cobayes ont montré très nettement le pouvoir antigène des anatoxines diphtériques préci-

pitées par l'alun. Ces expériences nous ont prouvé qu'un précipité obtenu par l'addition d'alun à l'anatoxine peut être une préparation fort immunisante, même s'il ne renferme qu'une dose très minime d'antigène.

Ayant déjà vérifié en pratique l'innocuité absolue et l'efficacité spécifique de notre anatoxine précipitée sur un petit nombre d'enfants, nous avons entrepris la vaccination collective de la population infantile, de un à neuf ans, par une seule injection de cette préparation.

Nos données comprennent les enfants vaccinés, en majorité, avec des préparations qui contenaient 0,5-0,75 p. 100 d'alun et dont la valeur ne dépassait pas 8-15 U. F.

D'après notre expérience sur les cobayes, nous étions déjà persuadés que l'efficacité de la préparation croît avec l'augmentation du pourcentage d'alun et l'élévation de sa valeur antigène.

Toute méthode d'immunisation antidiptérique doit satisfaire aux conditions suivantes : innocuité, réactivité modérée, forte efficacité spécifique, simplicité de préparation et constance de sa propriété antigénique.

L'analyse de nos documents, à ce point de vue est présentée dans les tableaux ci-dessous.

#### INNOCUITÉ ET RÉACTIVITÉ.

L'innocuité de notre préparation fut prouvée par l'expérience sur de nombreux animaux (90 cobayes) qui avaient reçu 5 et parfois même 10 cent. cubes d'anatoxine précipitée sans présenter ni perte de poids, ni phénomènes particuliers, généraux ou locaux. Une petite induration, non soudée à la peau, apparaissant au bout de vingt-quatre à quatre-vingt-seize heures, se résorbait peu à peu en trois à cinq semaines sans se développer en abcès durant les trois à cinq mois d'observation.

L'innocuité d'une injection unique de notre anatoxine précipitée est confirmée à l'heure actuelle par des centaines de milliers d'injections, effectuées par nous en Ukraine et dans une partie de l'URSS, au cours de l'année 1934.

L'absence de complications pendant toute cette campagne vaccinale nous autorise à affirmer l'innocuité de notre préparation.



Nous avons déjà, le 1<sup>er</sup> novembre 1934, à Kharkov et ses banlieues, plus de 50.000 enfants vaccinés, à différents âges, en majorité, de un à neuf ans.

La réactivité à l'injection unique de l'anatoxine précitée est présentée en partie dans le tableau IV.

TABLEAU IV. — Réactivité à l'injection unique d'anatoxine précitée.

AGE DES VACCINÉS	NOMBRE de vaccinés	RÉACTIONS		
		faibles	moyennes	fortes
Un à huit ans. . . . .	500	423	67	10
Huit à quinze ans . . . .	715	572	116	27
Total . . . . .	1.215	995	183	37

D'après ce tableau on voit que la majorité des enfants inoculés présentent de faibles réactions locales et seulement une minorité insignifiante (3 p. 100) de vives réactions générales et locales.

De règle, une petite tache rouge et légèrement œdémateuse, sensible au toucher, apparaît au lieu de l'injection. La sensibilité disparaît en vingt-quatre heures, mais la rougeur demeure encore vingt-quatre heures.

Un gonflement dur, non douloureux, des dimensions d'une noisette, se forme chez la plupart des sujets vaccinés; il n'est pas soudé à la peau, se résorbe lentement et disparaît vers la fin de la troisième semaine.

Les réactions locales vives se manifestent par un œdème considérable, de 7 à 10 centimètres environ, douloureux et fortement hyperémié; après quarante-huit à soixante-douze heures, l'hyperémie et la sensibilité diminuent. Dans la majorité des cas, les réactions locales font défaut, il n'y a qu'une rougeur insignifiante, disparaissant en vingt-quatre heures.

En pratiquant la vaccination par une injection unique d'anatoxine précitée, nous avons noté un grand nombre de réactions locales et générales dans la ville de Koupiansk.

Un grand pourcentage de réactions prononcées a été observé chez les écoliers au-dessus de huit ans, ainsi que chez les enfants de un à cinq ans. A l'examen détaillé des documents réunis, nous avons constaté que la même série d'anatoxine était simultanément utilisée à Kharkov, Vorochilovsk, Stalino et à la zone périphérique de Koupiansk, sans que le moindre accident y fût enregistré. L'idée nous est venue que la réactivité élevée chez les vaccinés de Koupiansk n'était pas due à l'introduction de l'anatoxine précipitée, mais probablement à la malaria qu'elle avait provoquée.

Pour vérifier la justesse de notre supposition, nous avons vacciné 165 enfants, de un à quinze ans, à Kharkov, avec l'anatoxine de la série 811, reçue directement de Koupiansk (du même lot). En même temps notre collègue Vera Moldavsky de l'Institut de protozoologie a vacciné avec cette série d'anatoxine 5 sujets paludéens qui se trouvaient à l'Institut pour la malaria expérimentale qui leur avait été injectée sans présenter des accès malariques pendant un temps assez long.

En outre, 2 sujets atteints de malaria, qui faisaient déjà depuis longtemps la cure spéciale à l'Institut ont reçu 1 cent. cube d'anatoxine précipitée de la série 829, dont la faible réactivité avait été notée par les médecins du Service de vaccination.

Chez 165 enfants, qui avaient reçu 1 cent. cube d'anatoxine précipitée de la série 811, on nota l'absence complète de vives réactions générales et locales, sauf un mal de tête insignifiant observé chez 2 enfants, tandis que les 2 sujets traités pour malaria spontanée et 4 sur les 5 atteints de malaria expérimentale, ont présenté de vives réactions locales et générales avec les mêmes phénomènes qui étaient enregistrés chez les vaccinés de Koupiansk (vomissements, température élevée, céphalée, etc.).

En observant la réactivité à l'anatoxine précipitée, nombre d'auteurs ont signalé l'apparition d'abcès stériles consécutifs aux indurations au lieu de l'injection qui se résorbent très lentement. Ainsi, Saunders en a noté l'apparition douze mois après la vaccination par trois injections d'anatoxine précipitée avec 9 p. 100 d'alun et d'anatoxine précipitée avec 2 p. 100 d'alun même après un délai de deux ans. Baker et Gill ont

enregistré 8 abcès sur 16.000 enfants vaccinés par une seule injection d'anatoxine précipitée avec 2 p. 100 d'alun.

Au début de notre travail, nous avons observé 5 abcès chez des enfants les quatrième et cinquième jours après la vaccination avec 1 cent. cube d'anatoxine précipitée (0,5 p. 100 d'alun).

La contamination au moment de l'inoculation n'étant point exclue, il ne nous semble pas possible de porter ces abcès au compte de l'anatoxine précipitée.

Les nombreuses vaccinations ultérieures (presque 50.000) ne nous ont pas donné jusqu'à ce moment de pareils accidents.

Quant à l'apparition des abcès tardifs, signalés par Saunders, nous ne les avons pas constatés, ni pendant les six mois d'expériences sur les cobayes, ni au cours de douze mois d'observation sur des enfants vaccinés.

Telles sont les données concernant la réactivité à la vaccination par une injection unique d'anatoxine précipitée. Elles démontrent chez les groupes d'âge différent que la sensibilité ne dépasse pas la sensibilité à l'anatoxine ordinaire.

#### EFFICACITÉ.

Comme critérium de l'efficacité nous avons considéré :

1° Le pourcentage des réactions de Schick positives transformées en négatives après la vaccination ;

2° Le titre antitoxique du sérum des sujets vaccinés.

L'épreuve de Schick, selon l'avis de nombre d'auteurs (Kasovitz, Kellog, Stevens, Hirsfeld, Jensen), ne va pas de pair avec le titre antitoxique. Par conséquent il ne peut pas servir toujours d'indice absolu d'un certain degré d'immunité contre la diphtérie, mais la déviation de la réaction de Schick est d'un pourcentage si minime qu'il se laisse facilement corriger dans les gros chiffres. C'est pourquoi la réaction de Schick est considérée comme la méthode de contrôle de l'efficacité des antigènes diphtériques par la plupart d'auteurs (Park, Schröder, Zingher, O'Brien, Okel, Martin, Dick, Ramon) et garde toujours sa valeur.

Les tableaux V, VI, VII, VIII et IX montrent l'influence de la vaccination par l'anatoxine précipitée sur le virage de la réaction positive de Schick en négative.

Sur 3.271 enfants, de un à neuf ans, présentant une réaction positive à l'épreuve de Schick, 2.773 ont donné une réaction négative cinq à neuf semaines après l'injection de 1 cent. cube d'anatoxine précipitée par 0,50 à 0,75 p. 100 d'alun, renfermant 7 à 14 U. E., soit 84,9 p. 100 d'efficacité (tableau V).

TABLEAU V. — Efficacité de l'immunisation par l'anatoxine précipitée.

AGE DES VACCINÉS	NOMBRE de vaccinés	DÉLAI de l'épreuve de Schick en semaines	RÉACTIONS positives	RÉACTIONS négatives	POURCENTAGE d'efficacité
Un à six ans. . . .	836	4 à 9	140	696	83,3
Sept à neuf ans . .	2.435	5 à 10	338	2.077	85,3
Total. . . .	3.271	5 à 9	497	2.773	84,8
<i>Remarque</i> : Tous les enfants avaient donné une réaction positive à l'épreuve préalable de Schick.					

836 enfants, de un à six ans, furent vaccinés pour la première fois. Dans cinq à neuf semaines, 696 d'entre eux ont donné une réaction négative.

Les tableaux VI et VII montrent le virage de la réaction positive en négative chez les enfants des écoles, qui avaient subi déjà quelque vaccination contre la diphtérie, ainsi que chez les enfants des jardins et des crèches, qui ne furent jamais vaccinés auparavant.

Il est à noter qu'un grand nombre d'enfants des écoles 6, 28, 23, 51 et d'autres ne se montraient pas encore immuns cinq à neuf semaines après l'injection unique d'anatoxine précipitée. C'était en partie des enfants des écoles de la zone périphérique, dont les classes primaires comprenaient des enfants de la campagne, c'est-à-dire les groupes, qui n'avaient subi aucune vaccination antidiphtérique. Les enfants présentant une réaction de Schick positive cinq à neuf semaines après l'immunisation ont été éprouvés une seconde fois douze à vingt semaines plus tard.

Les résultats du deuxième contrôle sont présentés dans le tableau VIII.



TABLEAU VI. — Immunisation par une injection unique  
d'anatoxine précipitée (écoles).

NUMÉROS des écoles	ÂGE des enfants	NOMBRE d'enfants immunisés	DÉLAI de l'épreuve de Schick	RÉACTIONS positives	RÉACTIONS négatives	REMARQUE
	années		semaines			
21 . . . . .	7 à 9	7	9	0	7	Tous les enfants ont donné une réaction positive à l'épreuve préalable de Schick.
33 . . . . .	7 à 8	60	9 à 10	10	50	
82 . . . . .	7 à 8	43	7 à 9	0	13	
36 . . . . .	7 à 9	58	7	9	49	
32 . . . . .	8	81	7 à 8	4	77	
62 . . . . .	7 à 8	165	10 à 3	15	150	
74 . . . . .	8 à 9	36	7 à 8	6	30	
37 . . . . .	8 à 8	75	6 à 7	7	68	
38 . . . . .	8 à 9	47	7	10	37	
15 . . . . .	8 à 9	54	6 à 7	2	52	
25 . . . . .	8	34	6 à 7	1	33	
25 . . . . .	8	39	5	1 (f.)	38	
6 . . . . .	8	74	6 à 7	20 (2 f.)	54	
53 . . . . .	8 à 9	33	7	6	27	
96 . . . . .	8 à 9	49	6	4	45	
34 . . . . .	8 à 9	81	6 à 7	9	72	
5 . . . . .	8 à 9	93	6	12	81	
27 . . . . .	8 à 9	28	6	6	22	
63 . . . . .	9	14	8	2	12	
26 . . . . .	9	15	6	5	10	
95 . . . . .	9	15	7	2	13	
18 . . . . .	8 à 10	32	8 à 9	2	50	
35 . . . . .	8 à 10	39	6	6 (1 f.)	33	
84 . . . . .	8 à 9	49	6	1	18	
58 . . . . .	8 à 9	84	6	10	74	
69 . . . . .	8 à 9	24	9	10	14	
60 . . . . .	8 à 9	64	9	6 (2 f.)	58	
28 . . . . .	8 9 9	22	5	5	17	
2 . . . . .	8 à 9	40	5	9	31	
23 . . . . .	8 à 9	66	9	30 (3 f.)	36	
82 . . . . .	8 à 9	84	7	9	75	
41 . . . . .	8 à 9	27	8	9	18	
11 . . . . .	8 à 9	39	8	7	32	
47 . . . . .	8 à 9	27	8	3 (1 f.)	24	
1 . . . . .	8 à 9	110	7	20	90	
20 . . . . .	8 à 10	19	9	2	17	
3 . . . . .	8 à 9	20	11	3	17	
30 . . . . .	8 à 9	64	8	6	58	
49 . . . . .	8 à 9	42	9	7	35	
81 . . . . .	8 à 10	32		5	27	
42 . . . . .	8 à 10	22	9	2	20	
97 . . . . .	8 à 10	10	11	0	10	
50 . . . . .	8 à 9	53	8 à 9	5	48	
93 . . . . .	7 à 10	35	10 à 11	5	30	
71 . . . . .	8 à 10	23	6	3	20	
79 . . . . .	8 à 10	20	4 à 15	2	18	
39 . . . . .	8 à 10	14	13 à 14	3	11	
29 . . . . .	9 à 10	24	4 à 5	4	20	
8 . . . . .	7 à 8	47	10	4	43	
Appr. Us. 43 . . . . .	8 à 9	39	9 à 10	9	30	
77 . . . . .	8 à 9	42	11	5	37	
51 . . . . .	8 à 10	21	5	5	13	
14 . . . . .	8 à 9	77	8	22 (9 f.)	55	
Vorochiloff . . . . .	7 à 8	33	7 à 8	2	31	
Hors d'école . . . . .	7 à 8	21	5 à 9	2	19	
Total. . .		2.435	5 à 10	358	2.077 (85 3 p. 400)	

TABLEAU VII. — Immunisation par une injection unique d'anatoxine précipitée (crèches et jardins d'enfants).

NUMÉROS des établissements	AGE des enfants	NOMBRE d'enfants immunisés	DÉLAI de l'épreuve de Schick	RÉACTIONS positives	RÉACTIONS négatives	REMARQUE
	années		semaines			
46 . . . . .	3 à 6	13	6	2	11	Tous les enfants ont donné une réaction positive à l'épreuve préalable de Schick.
24 . . . . .	1 à 5	30	47	4	26	
88 . . . . .	3 à 6	13	7	0	13	
13 . . . . .	1 à 5	80	5 à 9	4	76	
21 . . . . .	3 à 6	12	8	2	10	
85 . . . . .	1 à 5	29	4 à 8	8	21	
23 . . . . .	4 à 6	7	6	4	3	
Com. Aff. Int.	4 à 7	18	6	0	18	
Vorochiloff . .	1 à 5	38	5	4	34	
103 . . . . .	4 à 5	15	10	2	13	
32 . . . . .	2 à 6	11	6	5	6	
63 . . . . .	8	8	8	1	7	
129 . . . . .	3 à 5	41	8 à 9	4	37	
79 . . . . .	4 à 6	13	9 à 10	6	7	
117 . . . . .	4 à 6	4	11	1	3	
80 . . . . .	3 à 6	8	7 à 8	1	7	
32 . . . . .	3 à 6	11	7 à 8	5	6	
109 . . . . .	3 à 6	10		1	9	
112 . . . . .	5 à 6	5	7	1	4	
48 . . . . .	3 à 6	17	6 à 7	1	16	
200 . . . . .	5 à 6	5	7	2	3	
61 . . . . .	3 à 6	24	8	1	23	
135 . . . . .	4 à 7	19	7 à 8	6	13	
47 . . . . .	3 à 6	14	9	3	11	
22 . . . . .	4 à 6	7	6 à 7	1	6	
5 . . . . .	4 à 6	26	7 à 8	9	17	
16 . . . . .	3 à 6	23	5 à 6	3	20	
36 . . . . .	4 à 6	8	7	2	6	
67 . . . . .	3 à 6	7	9	2	5	
52 . . . . .	4 à 6	13	7 à 8	3	10	
84 . . . . .	3 à 6	7	6	2	5	
73 . . . . .	4 à 7	8	6	0	8	
45 . . . . .	4 à 7	17	7 à 8	2	15	
88 . . . . .	4 à 6	11	8 à 9	3	8	
25 . . . . .	4 à 7	20	8 à 9	1	19	
28 . . . . .	5	4	7	0	4	
54 . . . . .	4 à 6	11	7	4	7	
118 . . . . .	3 à 5	8	6 à 7	3	5	
171 . . . . .	4 à 5	19	8 à 9	3	16	
63 . . . . .	4 à 5	12	6	4	8	
154 . . . . .	4 à 5	12	6	3	9	
119 . . . . .	4 à 5	6	7 à 8	0	6	
51 . . . . .	4 à 5	11	6	3	8	
138 . . . . .	4 à 5	11	7 à 9	0	11	
1 . . . . .	3 à 6	10	7 à 8	3	7	
39 . . . . .	4 à 5	4	7 à 8	0	4	
61 . . . . .	3 à 5	24	8	1	23	
47 . . . . .	4 à 6	14	9	3	11	
83 . . . . .	4 à 7	12	6 à 7	4	8	
64 . . . . .	4 à 6	7	6 à 7	1	6	
149 . . . . .	4 à 5	6	7	1	5	
25 . . . . .	1 à 3	17	8 à 9	1	16	
13 . . . . .	1 à 3	12	8 à 9	4	8	
48 . . . . .	1 à 3	17	8	5	12	
Cr. Tramway .	1 à 4	27	4 à 6	1	26	
Total . . .		836	4 à 9	140	696 (83,3 p. 100)	

TABLEAU VIII. — **Seconde épreuve de Schick des enfants immunisés une fois avec l'anatoxine précipitée.**

ÉTABLISSEMENTS	NOMBRE d'enfants immunisés	DÉLAI de la 1 <sup>re</sup> épreuve de Schick	RÉACTIONS positives	NOMBRE d'enfants réévalués	DÉLAI de la 2 <sup>e</sup> épreuve de Schick	RÉACTIONS positives
		semaines			semaines	
Ecole 33. . . . .	60	8	40	5	16	1 (f.)
Ecole 35. . . . .	39	6	6	3	12	1
Ecole 53. . . . .	33	6	6	4	16	1 (f.)
Ecole 30. . . . .	64	8	6	3	12	1
Ecole 6. . . . .	74	6	18	13	20	1
Ecole 38. . . . .	47	6	10	9	20	4 (1 f.)
Ecole 38. . . . .	58	6	9	9	16	4
Ecole 1. . . . .	110	6	20	10	20	3
Ecole 23. . . . .	66	8	30	23	20	19
Ecole 51. . . . .	21	4	8	8	12	0
Ecole 11. . . . .	39	8	7	6	20	3
Jardin 83. . . . .	12	6	4	3	16	0
Jardin 54. . . . .	11	6	4	4	20	0
Total . . . . .	634		138	100	12 à 20	38

D'après le tableau VIII, on voit qu'en douze à vingt semaines le pourcentage des enfants non immuns a baissé considérablement. Ainsi, sur 74 enfants vaccinés à l'école n° 6, 18 ont donné encore en six semaines une réaction de Schick positive; 13 de ces derniers étant contrôlés la seconde fois, vingt semaines après, ont donné tous, sauf un, une réaction négative. A l'école 38 où 10 sur 47 immunisés ont donné, après six semaines, une réaction positive, chez 4 sur les 9 réévalués en douze à vingt semaines la réaction positive est devenue négative. Aux écoles 51, 11, au jardin 83 et dans plusieurs autres établissements où nous avons soumis à la deuxième épreuve la majorité des enfants restés encore non immuns six à neuf semaines après la vaccination, la baisse du taux des réactions positives fut considérable. Ainsi, 3.271 enfants immunisés par une injection unique d'anatoxine précipitée ont donné 84,8 p. 100 d'immuns au bout de cinq à neuf semaines et 93,6 p. 100 en douze à vingt semaines (d'après la seconde épreuve de Schick).

Le tableau IX montre l'accroissement progressif de l'immunité chez les enfants vaccinés par une seule injection. Les données de ce tableau sont en pleine concordance avec les

conclusions auxquelles ont abouti Havens, Graham, Wells, Park, Walker dans leurs travaux d'immunisation par les anatoxines précipitées avec l'alun.

TABLEAU IX. — Efficacité de l'immunisation  
avec une seule injection de l'anatoxine précipitée.

Quatre à sept semaines . . . . .	84,4	p. 100
Huit à onze semaines . . . . .	85,0	—
Douze à vingt semaines . . . . .	94,3	—

Nos données démontrent la durée du contact de l'antigène avec l'organisme et confirment la justesse du principe pris par Glenny comme base de ses travaux sur les antigènes à l'alun. Il pense que l'efficacité de l'immunisation contre la diphtérie résulte, non pas de la quantité d'antigène introduite, mais de la durée de son action dans l'organisme.

Alors la question se pose : est-ce que le taux d'alun ajouté et la valeur antigène de la préparation jouent quelque rôle dans la vitesse avec laquelle l'immunité est conférée ?

Nous ne pouvons pas encore donner de conclusions définitives sur ce sujet d'après notre pratique d'immunisation par une injection d'anatoxine précipitée, car notre documentation sur l'efficacité (v. tableaux V, VI, VII, VIII) est, presque exclusivement, basée sur l'application des antigènes de 7-14 U. F. renfermant 0,5 à 0,75 p. 100 d'alun. Nos expériences sur des cobayes (v. tableaux I, II, III) ont montré que l'augmentation du taux d'alun fait monter d'un certain degré le titre antitoxique du sérum des animaux immunisés, renforçant en même temps leur résistance vis-à-vis de la toxine diphtérique. Ces expériences ont également montré que l'immunisation des cobayes par les anatoxines de faible valeur, renfermant 2 p. 100 d'alun, protège les animaux contre des doses massives de toxine, provoquant chez eux la production d'antitoxine jusqu'à 1 unité.

Ces faits, ainsi que les données du tableau X montrant l'avantage de la préparation avec 0,75 p. 100 d'alun, nous amènent à la conclusion que l'augmentation du taux d'alun additionné et le renforcement de la valeur antigène de la préparation augmentent beaucoup l'efficacité déjà en cinq à neuf semaines.



TABLEAU X. — Influence  
du taux de l'alun sur l'efficacité de l'immunisation.

SÉRIE de l'anatoxine	TITRE antigénique de l'anatoxine (U. F.)	TAUX d'alun (p. 100)	NOMBRE d'enfants immunisés (abs.)	RÉACTIONS DE SCHICK dans 5 à 9 semaines		NOMBRE d'enfants immunisés (p. 100)
				Positives	Négatives	
803	14	0,5	323	69	254	79
804	11	0,5	1.310	233	1.073	82
807	14	0,75	1.267	155	1.112	88

*Remarque :* Tous les enfants ont donné une réaction positive à l'épreuve préalable de Schick.

TABLEAU XI. — Antitoxine dans les sérums des enfants immunisés

AGE des enfants	NOMBRE de sérums	> 1 U. A.	1 U. A.	> 0,5 U. A.	0,5 U. A.	> 0,2 U. A.	0,2 U. A.	> 0,1 U. A.	0,1 U. A.	< 0,1 U. A.
A. — Répartition des sérums, suivant le titre antitoxique.										
1 à 9	53	2	7	4	8	2	7	2	16	5
NOMBRE de sérums	DÉLAI de l'épreuve en semaines	1 U. A.	0,5 U. A.	0,2 U. A.	< 0,2 U. A.	0,1 U. A.	< 0,1 U. A.			
B. — Répartition des titres antitoxiques des sérums, suivant le délai de l'épreuve.										
14	6 à 8	2	3	3	1	3	2			
10	8 à 20	1	5			4				

Le titre antitoxique du sérum des sujets immunisés est présenté au tableau XI.

Au total, 53 sérums ont été étudiés au point de vue de leur teneur en antitoxine. Le titre antitoxique a été déterminé de cinq à onze semaines après l'immunisation, à l'aide de la méthode de Römer.

23 sérums sur 53 ont montré un titre de  $1/5$  U. A. à  $1/20$

U. A.; 2 sérums  $> 1/10$  U. A.; 16,  $1/10$  U. A. et 5  $< 1/10$  U. A. Le titre du reste des sérums a varié de  $1/5$  à 1 U. A.; pour 2 sérums il a dépassé 1 U. A. dans 1 cent. cube; 7 ont donné 1 U. A.; 4  $> 1/2$  U. A.; et 8,  $1/2$  U. A.

10 sérums ont été étudiés seulement cinq à six mois après l'immunisation; c'étaient ceux du groupe d'enfants ayant donné une réaction de Schick positive cinq à neuf semaines après l'immunisation et une réaction de Schick négative cinq à six mois après l'immunisation. Cette étude a donné les résultats suivants : 1 sérum contenait 1 U. A., 5,  $1/2$  U. A et 4,  $1/10$  U. A.

TABLEAU XII. — Titre antitoxique des sérums des enfants immunisés par trois injections d'anatoxine de haute valeur antigène.

NOMBRE DE U. F. dans 1 cent. cube d'anatoxine	DOSES ET ORDRE d'injections	NOMBRE total de U. F. inoculés	TITRE antitoxique de sérums (U. A.)	NOMBRE de sérums (p. 100)
16 . . . . .	1, 1, 2 cent. cubes.	64	$\left. \begin{array}{l} 1/30 \\ 1/30-1/10 \\ 1/10-1 \end{array} \right\}$	$\left. \begin{array}{l} 0 \\ 4,57 \\ 95,63 \end{array} \right\}$

Nous reproduisons dans le tableau XII les données de Ramon et ses collaborateurs (Ramon, Debré, 1932).

Comparant les données des tableaux XI et XII, on voit que la variation du nombre d'unités antitoxiques dans les sérums des enfants immunisés par une seule injection de 1 cent. cube d'anatoxine précipitée ne diffère pas de celle des enfants immunisés par les anatoxines de haute valeur antigénique, en trois injections.

Admettant quelque relativité pour la réaction de Schick, il faut pourtant reconnaître que le dosage direct de l'antitoxine dans les sérums des enfants immunisés prouve avec évidence l'immunité réelle conférée par une seule injection d'anatoxine précipitée.

L'efficacité épidémiologique d'anatoxine précipitée fera l'objet d'une communication spéciale.

*La stabilité antigénique de l'anatoxine précipitée.*

Le fait très important dans l'évaluation des préparations antidiptériques, c'est leur stabilité antigénique.

Après quinze mois d'observation, nous avons la possibilité de caractériser l'anatoxine précipitée de ce point de vue.

Les anatoxines précipitées des séries 803, 807, 804, préparées le 15 juillet 1933, ont été conservées à la température de laboratoire jusqu'à la fin d'octobre 1934.

Pendant cet espace de temps, leur valeur antigénique était éprouvée plusieurs fois au moyen de la réaction de floculation et par l'injection aux cobayes.

TABLEAU XIII. — Stabilité antigénique des anatoxines précipitées.

NUMÉROS DES SÉRIES	TITRE antigénique des anatoxines précipitées (U. F.)					NUMÉROS DES COBAYES	DOSE D'ANATOXINE INJECTÉE (centimètre cube)	DATE DE L'INJECTION d'anatoxine	RÉACTION DE SCHICK dans 2 à 3 semaines	DOSES DE TOXINE INJECTÉES (Dlm)	RÉSULTAT
	15 août 1933	4 avril 1934	5 mai 1934	27 septembre 1934	27 octobre 1934						
803	14	14				303	1,0	4 avril 1934.	Nég. (0,5 U. A. p. 1 c. c.).	500	Survie.
						12	0,5	23 oct. 1934.	Nég.	500	Survie.
						13	0,3		Nég. (en 4 s.).	500	Mort le 3 <sup>e</sup> jour.
						14	0,2		Nég. (en 8 s.).	100	Survie.
804	14					304	1	4 avril	Nég.	500	Survie.
807	11					305	1	1934.	Nég.	500	Survie.
836			27	27	10	11	0,2	27 oct.	Nég.	500	Survie.
						10	0,2	1934.	Nég.	100	Survie.

L'anatoxine de la série 803, dont le titre antigénique, le 15 août 1933, était de 14 U. F., donnait aux épreuves du 4 avril et du 27 octobre 1934 le même titre. Le cobaye 303, injecté avec 1 cent. cube d'anatoxine de cette série, conservée huit mois et demi au laboratoire, présenta, après trois semaines, une réaction de Schick négative, 0,5 U. A. par centimètre cube de sérum et résista à l'introduction de 500 Dlm de toxine diphtérique. Les cobayes XII, XIII et XIV injectés respectivement avec 0 c. c. 5, 0 c. c. 3 et 0 c. c. 2 de la même anatoxine conservée plus de quatorze mois au laboratoire, se sont montrés

en deux à huit semaines Schick négatifs et suffisamment résistants à 500 Dlm de toxine.

Cela est également vrai pour les séries 804, 807 et 836, qui ont gardé leur pouvoir antigène après neuf à quinze mois de conservation à la température de laboratoire.

#### CONCLUSIONS.

1° L'addition d'alun de sodium aux anatoxines diphtériques fait croître leur efficacité immunisante ;

2° L'augmentation du taux d'alun additionné augmente la production d'antitoxine dans le sérum des cobayes immunisés et accroît leur résistance aux doses massives de toxine diphtérique ;

3° Le précipité du bouillon Martin obtenu au moyen d'alun n'étant pas une préparation immunisante spécifique, acquiert de hautes propriétés antigéniques en présence d'une quantité minime d'antigène spécifique ;

4° L'anatoxine précipitée est une préparation inoffensive ;

5° Une seule injection d'anatoxine précipitée provoque, chez les enfants de différents âges, des réactions égales à celles que fournit l'anatoxine ordinaire ;

6° Une seule injection d'anatoxine précipitée fait virer en cinq à neuf semaines la réaction de Schick positive ou négative dans 84,8 p. 100 des cas ; en douze à vingt semaines le pourcentage monte jusqu'à 93,6 p. 100.

7° L'augmentation du taux d'alun et de la valeur antigène de la préparation augmente l'efficacité de la vaccination par l'anatoxine précipitée en cinq à neuf semaines ;

8° L'application de l'anatoxine précipitée en une seule injection élève le titre antitoxique du sérum des enfants immunisés jusqu'à 1 U. A. en cinq à neuf semaines ;

9° L'anatoxine précipitée, conservée pendant quinze mois à la température de laboratoire, garde sa valeur antigène.

#### BIBLIOGRAPHIE

BAKER et GILL. *Am. J. Publ. Health*, 24, n° 22 24, 1934.

GOROKHOVNIKOVA i VAGNER-SAKHAROVA. *J. Epidemiol. i Immunol.* (en russe), n° 11, 1934.



- JENSEN. *C. R. Soc. Biol.*, **108**, 1931, n° 31.
- KOSSAREFF et SEIDEL. *J. Epidemiol. i. Microbiol.* (en russe), n° 5, 1932.
- LEONARD et HOLM. *J. Infect. Dis.*, **53**, n° 3, 1933.
- LOUMINE et HANDELMAN. *Sowietskaia Vrathebnaia Gaseta* (en russe), n° 2, 1934.
- MELNIK, PALANT et MITELMAN. *Vrathebnois Delo* (en russe), n° 1, 1934.
- RAMON et DEBRÉ. *La Presse Médicale*, n° 29-32, 1932.
- SAUNDERS. *The Lancet*, 1933, pp. 791-795.
- SPASSKY et ODRIMA. *Ces Annales*, **52**, 1934, n° 3.
- WALKER. *J. Am. M. Ass.*, **102**, 1934, n° 12.
- WHITE et SCHLAGETER. *J. Am. M. Ass.*, **102**, 1934, n° 12.
- ZAJDEL (R.). *C. R. Soc. Biol.*, **116**, 1934, n° 18.

# ESSAI D'IMMUNISATION ANTIPNEUMOCOCCIQUE PAR INHALATION

par J. P. EXCHAQUET.

(*Institut d'Hygiène de l'Université de Zurich.*  
Directeur : Professeur SILBERSCHMIDT.)

## Introduction.

Le poumon, à cause de sa surface d'absorption considérable, semble être une voie extrêmement favorable à l'application de médicaments ou de substances immunisantes. Heubner [1] a démontré que le poumon pouvait absorber de grandes quantités de liquide. D'autre part, il est à noter que certaines substances parviennent plus rapidement dans le courant sanguin si elles sont injectées dans la trachée que par la voie sous-cutanée.

Ces raisons expliquent que l'inhalation ait joué, depuis quelques années, un rôle assez considérable en médecine expérimentale. Silberschmidt [2] a prouvé que l'immunisation par inhalation était possible, immunisation avec l'ana- et l'antitoxine diphtérique et tétanique. Il a aussi, en employant cette voie d'application, réussi à intoxiquer avec de la toxine tétanique, diphtérique et avec de la ricine, des cobayes, des rats et des souris. Il a enfin, avec ses élèves (Verdan) [3], essayé la voie pulmonaire pour l'application de médicaments.

Stillmann et Eguchi, eux aussi, ont obtenu, par inhalation, l'immunité antipneumococcique. Eguchi [4] a réussi à immuniser de jeunes souris et des souris adultes, par des inhalations répétées de pneumocoques tués, contre des doses cent fois mortelles. Stillmann [5] a obtenu une immunité, faible à vrai dire, chez des souris ayant résisté à l'infection de pneumocoques virulents; mais il a surtout cherché à obtenir [6] chez des lapins, par des inhalations répétées de

pneumocoques virulents du type I, une immunité décelable par la mise en évidence dans le sérum de ses lapins, d'agglutinines, d'une part; d'anticorps protégeant la souris contre l'atteinte pneumococcique d'autre part. Il a montré que le pourcentage des lapins présentant des agglutinines dans leur sérum reste stationnaire après cinq séances d'inhalation, et relativement bas (25 p. 100), tandis que le pourcentage de ceux qui présentent des substances protectrices est proportionnel au nombre de séances (après dix séances, 82 p. 100).

Il a enfin prouvé [7] que l'inhalation de pneumocoques du type I provoque dans le sérum du lapin la formation d'anticorps spécifiques qui y subsistent plusieurs années; avec le type II, ces anticorps apparaissent de manière passagère (quelques mois), tandis qu'avec le type III, on ne peut jamais en déceler.

Enfin, Brunzema [8] a démontré que des « quantités naturelles » (1) de pneumocoques virulents ne déterminent jamais d'immunité.

D'autre part, bien des auteurs ont étudié l'infection expérimentale par voie d'inhalation. Stillmann, comme d'ailleurs Lange, a montré la résistance de la souris à l'infection pneumococcique par inhalation. Dans ses premiers travaux, Lange nie la possibilité d'infection par cette voie [9], même en employant des doses dix et cent fois mortelles [10]. Plus tard [11] il a réussi à infecter, dans 16 p. 100 des cas, des souris blanches. Il a démontré alors que ce pourcentage si bas n'était pas dû à une diminution de la virulence du pneumocoque, mais à sa disparition très rapide du poumon. Jamais Lange n'a obtenu par inhalation de pneumocoques virulents de pneumonie expérimentale chez la souris, car sa méthode ne permettait pas l'invasion massive du poumon.

Ces dernières années, Neufeld [12] a obtenu chez la souris, non seulement la septicémie pneumococcique, mais la pneumonie expérimentale à pneumocoques, par la voie respiratoire. Il y est arrivé en employant non l'inhalation, mais la méthode de Shope [13], et d'Andrewes, Laidlaw et Smith [14],

(1) Il qualifie de « naturelle » une quantité équivalente à celle que les souris peuvent inhaler en dehors de toute expérimentation.

à savoir l'instillation nasale d'une émulsion de pneumocoques virulents pendant la narcose. Il procède de la façon suivante : la souris est narcotisée à l'éther; cette narcose, contrairement à la narcose chloroformique, est très généralement bien supportée; dès que la souris est endormie, on la saisit de façon que l'animal repose, légèrement incliné sur le dos, dans la paume de la main. Au moyen d'un tube capillaire, on instille dans les narines une gouttelette de bouillon de culture de vingt-quatre heures. L'absence des réflexes permet l'aspiration directe du liquide jusque dans les poumons, ce que Neufeld a prouvé en instillant, au lieu de bouillon, de l'encre de Chine décelable, après sacrifice immédiat de l'animal, jusque dans les ramifications extrêmes de l'arbre pulmonaire. Cette méthode est analogue à l'inhalation en ce sens qu'elle emploie aussi la surface pulmonaire comme voie d'absorption, mais différente en ce que l'apport au poumon est infiniment plus massif, plus court et aussi plus dosable. Elle a permis à Neufeld et à ses collaborateurs des études sur la pneumonie expérimentale due au pneumocoque et à d'autres agents pathogènes, sur la résistance naturelle des poumons à l'infection, sur l'immunité engendrée par l'instillation de vaccins [15] et sur la séro- et l'aurothérapie de la pneumonie expérimentale [16].

Tout récemment, Rake [17] a publié une étude de l'aspect anatomo-pathologique des lésions causées par l'instillation nasale de pneumocoques. Il conclut que ces lésions sont différentes quantitativement suivant les souches de souris, et qualitativement suivant les types de pneumocoques. En général, l'instillation de pneumocoques du type I détermine une pneumonie diffuse et une glomérulo-néphrite aiguë.

Depuis que les remarquables travaux des auteurs américains Avery, Heidelberger, Morgan, etc., sur la constitution chimique de l'antigène pneumococcique ont abouti à la découverte des polysaccharides capsulaires vecteurs de la spécificité de type et des corps nucléaires vecteurs de la spécificité d'espèce, la valeur antigénique de ces différentes fractions a fait l'objet de nombreuses études. Celles-ci ont amené à la conclusion suivante : le polysaccharide extrait de la capsule du pneumocoque n'est pas antigène, en ce sens qu'il ne sti-



mule pas la formation d'anticorps ; en revanche, les expériences d'Avery et Gœbel [48] semblent prouver que son composé acétylé aurait une certaine valeur antigénique ; la protéine isolée du pneumocoque est antigène ; elle provoque la formation d'anticorps qui réagissent avec la protéine de pneumocoques homo- et hétérologues, donc d'anticorps spécifiques d'espèce et non de type [49].

Felton [20] a relaté des expériences d'immunisation avec des fractions antigéniques de pneumocoques, fractions solubles ou insolubles dans les acides ou dans les bases qui lui ont permis d'obtenir, d'abord chez la souris, puis chez l'homme, une immunité notable. Ses résultats nous ont incité à chercher si l'inhalation de l'un de ces antigènes conférait une immunité à la souris et au lapin.

### Expériences personnelles.

Nous nous sommes attaché à l'étude de l'immunité par inhalation de pneumocoques ou d'extrait pneumococcique. Toutes nos expériences ont été faites en utilisant comme virus une souche de pneumocoque isolée d'un crachat de pneumonique : nous avons choisi, à dessein, une souche du type I, qui se prête mieux que tout autre à des expériences de ce genre pour les raisons suivantes :

1. Les expériences de Stillmann ont prouvé que seul le type I permet d'obtenir une immunité durable ;

2. Selon Yoshioka [21], les souches avirulentes ont un pouvoir antigénique faible ou nul ; or, les seules souches virulentes que nous ayons isolées au début de nos recherches étaient du type I.

Pour nos inhalations, nous nous sommes servi d'une émulsion de pneumocoques tués par la chaleur. On sait, depuis que Killian [22] a consacré de nombreuses études à l'immunisation antipneumococcique, que la valeur antigénique du pneumocoque n'est pas diminuée par la chaleur ; que même il peut être chauffé à 100° pendant trente minutes sans la perdre. La souche par nous isolée ne présentant pas une virulence suffisante, nous l'avons exaltée par quinze passages successifs sur

la souris ; nous avons ainsi obtenu une souche dont la virulence était telle que 0 c.c. 000002 de bouillon de culture de vingt-quatre heures tuait la souris en quarante-huit à soixante-douze heures. Cette virulence, qui est loin d'être « maximale », au sens de Lange, s'est montrée suffisante.

Nous avons conservé cette souche, pendant les neuf mois qu'ont duré nos expériences, grâce à la méthode préconisée par Neufeld. Nous prélevions aseptiquement le cœur et la rate de souris mortes de septicémie pneumococcique, nous les desséchions dans le vide et les conservions à la température du laboratoire. Un fragment de l'un de ces organes, ensemençé dans du bouillon, nous a toujours donné une culture abondante et de virulence constante. Ce procédé a permis à Neufeld de conserver depuis plus de vingt ans une souche de pneumocoques du type I, en alternant les séjours à l'exsiccateur et les passages sur la souris.

Quant à la technique de l'inhalation, nous avons employé, avec de très légères modifications, celle que Silberschmidt a décrite dans ces *Annales* [4], ce qui nous dispense de plus longues descriptions ; l'inhalateur, relié à une pompe à eau, nous permettait d'obtenir une inhalation plus continue et de plus longue durée que celui de Lange, actionné par une pompe de bicyclette. Nous croyons pouvoir attribuer à cette amélioration technique les légères différences entre les résultats de cet auteur et les nôtres. Curieux de connaître approximativement la dose inhalée par nos souris et employant à cet effet la méthode de Lange (sacrifice de l'animal immédiatement après une inhalation, broyage du poumon et ensemencement de dilutions de ce broyage), nous avons, après quinze minutes d'inhalation, pu voir que la 1/10.000 partie du poumon donnait encore une culture de pneumocoques, alors que Lange obtenait rarement une culture en ensemençant la 1/1.280 partie du poumon.

4 séries d'expériences ont fait l'objet de cette étude ; ce sont :

1° L'infection par inhalation et instillation de pneumocoques virulents ;

2° L'immunisation par inhalation de pneumocoques tués par la chaleur ;

3° L'obtention de sérums par inhalation de pneumocoques tués par la chaleur;

4° L'immunisation et l'obtention d'un sérum par inhalation d'un extrait pneumococcique.

#### 1° INFECTION PAR INHALATION ET PAR INSTILLATION DE PNEUMOCOQUES VIRULENTS.

Avant d'entreprendre l'étude de l'immunisation par la voie respiratoire, nous avons cherché à nous rendre compte si l'inhalation de pneumocoques virulents infectait régulièrement les souris. Nos premières expériences, datant du printemps 1935, furent très satisfaisantes. En effet, alors que Lange n'infectait que 16 p. 100 de ses souris, nous avons réussi, avec des doses à vrai dire beaucoup plus massives, à infecter la totalité de notre lot de 12 souris. Chaque séance d'inhalation durait vingt-cinq minutes. La quantité pulvérisée par séance était une émulsion en solution physiologique de 2 cultures de vingt-quatre heures sur tube de gélose ascite inclinée. (Nous avons toujours employé, pour nos inhalations, des émulsions de bacilles cultivés sur gélose plutôt qu'en bouillon; la vérification de la pureté de la souche étant, par cette méthode, grandement simplifiée.)

De nos 12 souris, 6 sont mortes après une séance (aux deuxième, troisième, cinquième, sixième et septième jours), 3 après 2 séances (aux premier, troisième et quatrième jours suivant la deuxième inhalation), 1 après 3 séances et 2 après 7 séances. Toutes ces souris sont mortes de septicémie pneumococcique, vérifiée par le frottis direct et l'ensemencement de la rate et du sang du cœur; en outre, l'une d'entre elles présentait une pneumonie bilatérale à pneumocoques.

Nous avons ainsi obtenu une mortalité de 100 p. 100; mais nous avons déjà été frappé par les grandes différences individuelles de la sensibilité de nos souris à ce mode d'infection; alors qu'une séance suffisait à infecter mortellement 6 souris sur 12, il fallait 7 inhalations successives pour tuer les plus résistantes.

En juillet 1935, nous avons fait à nouveau, pour éprouver la résistance de souris immunisées par inhalation (cf. tab. I),

une nouvelle expérience d'infection par inhalation. Les 3 souris témoins, non traitées, succombèrent après 2, 4 et 8 séances d'inhalation; à chaque séance, nous pulvérisons l'émulsion de 4 cultures sur gélose; il nous a donc fallu pulvériser 32 cultures pour infecter mortellement l'une des 3 souris, tandis que, dans l'expérience précédente, la pulvérisation de 2 cultures avait suffi pour tuer 6 souris. La grande variabilité d'action de l'infection par inhalation observée alors, puis dans des expériences postérieures dont les résultats furent plus inconstants encore (nous n'obtenions plus régulièrement la mort de nos souris), nous engagèrent à abandonner cette méthode pour adopter celle de Neufeld : l'instillation d'émulsion pneumococcique sous narcose. Nos expériences, qui portent d'ailleurs sur un petit nombre d'animaux, ont confirmé celles de Neufeld; nous avons employé des doses plus élevées que cet auteur : nous instillons environ 0 c. c. 03 de l'émulsion d'une culture sur gélose inclinée dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Nous avons ainsi régulièrement obtenu l'infection mortelle après une seule instillation, toutes nos souris présentaient des pneumocoques dans le sang et dans la rate; 5 sur 6 présentaient en plus des lésions pulmonaires allant de la simple hyperémie à la pneumonie.

En résumé, l'infection par inhalation de pneumocoques virulents donne des résultats inconstants. Au contraire, l'instillation nasale, sous narcose, d'une émulsion de pneumocoques détermine régulièrement l'infection mortelle de la souris.

## 2° IMMUNISATION PAR INHALATION DE PNEUMOCOQUES TUÉS.

Dans cette partie de notre travail, nous avons procédé à 6 séries d'expériences. Dans chacune d'elles, nous avons cherché à immuniser des souris par inhalation de pneumocoques tués par la chaleur : nous chauffions pendant trente minutes notre émulsion au bain-marie à 70°; puis nous en contrôlions la stérilité par ensemencement sur gélose-ascite. Les doses inhalées, le nombre de séances d'inhalation, de même que le mode d'infection, ont varié. Nous exposons dans les tableaux I et II les expériences dans lesquelles nous avons employé l'inhalation et l'instillation comme mode d'infection;



# IMMUNISATION ANTIPNEUMOCOCCIQUE PAR INHALATION 675

**TABEAU I. — Immunisation par inhalation de pneumocoques tués. Epreuve d'immunité par inhalations répétées de pneumocoques virulents.**

Matériel employé pour les inhalations : émulsion en solution physiologique de cultures de vingt-quatre heures sur gélose inclinée.

IMMUNISATION				INFECTION	SOURIS TRAITÉES		SOURIS TÉMOINS	
Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées			Numéro de la souris	Résultat	Numéro de la souris	Résultat
		par séance	total					
30	22	4	88	8 séances d'inhalation de pneumocoques virulents en dix jours. A chaque séance, pulvérisation de 4 cultures sur gélose.	1 2 3	Survit. Survit. Survit.	1 2 3	+ 3.II (1). + 6.IV (1). + 10.VIII (1).

(1) + 6. IV. signifie : souris morte le sixième jour après la première inhalation, soumise à 4 séances d'inhalation infectante.

**TABEAU II. — Immunisation par inhalation. Epreuve d'immunité par instillation nasale.**

Matériel employé pour les inhalations : cf. tableau I.

IMMUNISATION				INFECTION	SOURIS TRAITÉES		SOURIS TÉMOINS	
Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées			Numéro de la souris	Résultat	Numéro de la souris	Résultat
		par séance	total					
30	70	2	140	Instillation sous narcose d'une gouttelette d'émulsion de pneumocoques virulents.	1 2 3	Survit. Survit. Survit.	1 2 3	+ 1 + 2 + 3
30	14	8	112		1 2 3	Survit. Survit. Survit.		

+ 2 signifie : souris morte le deuxième jour après l'instillation.

dans le tableau III, celles dans lesquelles l'immunité de nos

souris a été éprouvée par l'injection intrapéritonéale de pneumocoques virulents.

Il résulte des deux premiers tableaux que les souris immunisées ont toutes supporté l'inhalation ou l'instillation de pneumocoques virulents qui tuaient les témoins.

Dans les expériences 3 et 4 du tableau III, nous avons cherché à voir s'il y avait avantage à inhaler de petites doses d'antigène souvent répétées, ou de fortes doses plus espacées. Avec des quantités antigéniques totales à peu près équivalentes, nous avons obtenu des résultats semblables. Nous ne pouvons donc pas conclure à l'avantage de l'une de ces méthodes sur l'autre.

Les résultats de ces expériences nous montrent que l'inhalation de pneumocoques tués peut engendrer une immunité assez considérable, à condition d'employer de fortes doses antigéniques et de répéter les inhalations. Après trois semaines d'inhalation, les souris ont résisté à l'injection intrapéritonéale de 50 doses mortelles; après trente jours, nous avons obtenu une résistance contre 500 doses mortelles, alors que 2.500 doses mortelles n'étaient pas tolérées.

### 3° OBTENTION DE SÉRUMS ANTIPNEUMOCOCCIQUES PAR INHALATION DE PNEUMOCOQUES TUÉS.

Parallèlement à nos expériences sur la souris, nous avons traité, avec la même technique (inhalation de pneumocoques tués), des lapins dans le sérum desquels nous avons recherché des propriétés immunisantes. Pour ce, nous avons injecté ce sérum sous la peau de souris qui ont été soumises aux mêmes épreuves d'infection que dans les expériences ci-dessus : inhalation, instillation, ou injection intrapéritonéale de pneumocoques virulents. Les tableaux IV, V et VI montrent nos expériences faites en utilisant ces trois modes d'infection. Nous n'avons jamais obtenu de sérums à titre agglutinant élevé.

Les tableaux IV et V nous prouvent que nos sérums ont une certaine valeur protectrice; le tableau VI donne une base quantitative à notre appréciation, car l'épreuve d'immunité par voie intrapéritonéale permet un dosage exact.

Il résulte des expériences relatées dans le tableau VI que le

TABLEAU III. — Immunisation par inhalation.  
Epreuve d'immunité par injection intra-péritonéale.

Inhalations : pneumocoques tués par la chaleur, cf. tableau I. Mode d'infection : injection intra-péritonéale de culture de vingt-quatre heures en bouillon.

NUMÉRO de l'expérience	IMMUNISATION				INJECTION	SOURIS TRAITÉES		SOURIS TÉMOINS	
	Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées		Injection intra- péritonéale	Numéro de la souris	Résultat	Numéro de la souris	Résultat
			par séance	total					
1	21	15	2	30	1 d. m.	1	Survit. Survit. + 2	1	+ 2
					5 d. m.	2		2	+ 3
					25 d. m.	3			
2	28	22	4	88	1 d. m.		Survit. Survit. Survit.	1	+ 2
					5 d. m.			2	+ 2
					5 d. m.			3	+ 2
					25 d. m.	1			
					50 d. m.	2			
3	21	6	6	36	250 d. m.	3	Survit. Survit. + 4 Survit. + 4 + 3 + 3		
					500 d. m.	4		1	+ 2
					500 d. m.	5		2	+ 3
					500 d. m.	6		3	+ 2
					500 d. m.	7		4	+ 3
					500 d. m.	8		5	+ 2
	21	45	1	45	5 d. m.	1	Survit. Survit. Survit. Survit. + 2 + 3 + 2 + 3	1	+ 2
					5 d. m.	2		2	+ 3
					100 d. m.	3		3	+ 2
					100 d. m.	4		4	+ 3
					250 d. m.	5		5	+ 2
					250 d. m.	6		6	+ 2
4	50	70	2	140	500 d. m.	7	Survit. Survit. Survit. Survit. + 2 + 2		
					500 d. m.	8			
					1 d. m.			1	+ 2
					5 d. m.			2	+ 2
					100 d. m.	1		3	+ 2
					100 d. m.	2			
	50	14	8	112	300 d. m.	3	Survit. Survit. Survit. Survit. + 1 + 2	4	+ 2
					500 d. m.	4			
					2.500 d. m.	5		5	+ 1
					2.500 d. m.	6			
					1 d. m.			1	+ 2
					5 d. m.			2	+ 2
					100 d. m.	1		3	+ 2
					100 d. m.	2			
					500 d. m.	3		4	+ 2
					500 d. m.	4			
					2.500 d. m.	5		5	+ 1
					2.500 d. m.	6			

+ 4 signifie : souris morte le quatrième jour après l'injection d'épreuve, pneumocoques dans la rate et dans le sang.

1 d. m. signifie 1 dose mortelle : 0 c. c. 000002 de bouillon de 24 heures. Cette dose tue la souris en quarante-huit à soixante-douze heures.

TABLEAU IV. — Immunisation d'un lapin par inhalation : recherche du pouvoir protecteur de son sérum sur des souris infectées par inhalation.

Inhalations immunisantes : pneumocoques tués par la chaleur, cf. tableau I.

Recherche du pouvoir protecteur du sérum : injection sous-cutanée, à la souris, de 0 c.c. 5 de sérum douze heures avant la première inhalation infectante.

IMMUNISATION (Lapin)				INFECTION	RECHERCHE du pouvoir protecteur (Souris)			
Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées			Souris traitées		Souris témoins	
		par séance	total		Numéro de la souris	Résultat	Numéro de la souris	Résultat
30	22	4	88	8 inhalations de pneumocoques virulents en dix jours. A chaque séance, pulvérisation de 4 cultures sur gélose.	1 2 3	Survit. Survit. Survit.	1 2 3	+ 3.II. + 6.IV. + 10.VIII.

+ 6.IV. signifie : souris morte le sixième jour après la première inhalation, soumise à quatre séances d'inhalation infectante.

sérum de lapins ayant inhalé à plusieurs reprises, pendant vingt et un à cinquante jours des pneumocoques tués, acquiert des propriétés protectrices; les souris auxquelles on injecte ce sérum supportent l'injection intrapéritonéale de 500 doses mortelles pratiquée douze heures après. L'action prophylactique se manifeste encore lorsque l'injection de sérum a lieu en même temps que l'infection intrapéritonéale. En revanche, si l'application de ce sérum suit l'infection à six heures d'intervalle, elle ne parvient plus à enrayer le cours de la pneumococcie.

#### 4° IMMUNISATION ET OBTENTION DE SÉRUM PAR INHALATION D'UN EXTRAIT PNEUMOCOCCIQUE.

Nous avons relaté les résultats obtenus par Felton avec différentes fractions de pneumocoques, fractions solubles ou insolubles dans les bases ou dans les acides, fractions obtenues par digestion tryptique, etc. Nous avons nous-même essayé



TABLEAU V. — Immunisation d'un lapin par inhalation; recherche du pouvoir protecteur de son sérum sur des souris infectées par instillation nasale.

Inhalations : pneumocoques tués par la chaleur, cf. tableau I. Recherche du pouvoir protecteur du sérum : injection sous-cutanée, à la souris, de 0 c. c. 5 de sérum douze heures avant l'instillation infectante.

IMMUNISATION (Lapin)				INFECTION	RECHERCHE du pouvoir protecteur (Souris)			
Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées			Souris traitées		Souris témoins	
		par séance	total		Numéro de la souris	Résultat	Numéro de la souris	Résultat
50	14	8	112	Instillation sous narcose d'une gouttelette d'émulsion de pneumocoques virulents.	4 2 3	Survit. Survit. Survit.	4 2 3	+ 4 + 2 + 5

+ 5 signifie : souris morte le cinquième jour après l'instillation infectante.

Une seconde expérience, avec le sérum d'un autre lapin traité de la même façon, a donné des résultats semblables.

de préparer l'un des extraits de Felton, la fraction acido-soluble du pneumocoque.

Voici, en résumé, la technique employée :

Le culot de centrifugation de plusieurs litres de culture en bouillon est lavé, desséché à l'exsiccateur, pesé et mélangé dans vingt fois son poids de solution décimale de soude caustique; trente minutes après, on ajoute à cette solution alcaline de l'acide chlorhydrique jusqu'à obtention d'une solution chlorhydrique normale; on laisse agir ce solvant pendant douze heures, puis on centrifuge. Le liquide surnageant, neutralisé, contient en solution la fraction acido-soluble du pneumocoque. (Pour plus de détails, et pour les différentes techniques, nous renvoyons aux travaux de Felton [19]).

Nous avons voulu vérifier tout d'abord la valeur antigénique de cet extrait en l'injectant sous la peau de souris. Après cinq injections journalières de 0 c. c. 5 de notre extrait, nous procédâmes à l'injection d'épreuve par voie intrapéritonéale.

NUMÉRO DE L'EXPÉRIENCE		IMMUNISATION (Lapins)				INFECTION	RECHERCHE DU POUVOIR PROTECTEUR (souris)										
		Durée en jours	Nombre de séances	Nombre de cultures pulvérisées			Injection intra-péritonéale	Souris traitées		Souris témoins							
				par séance	total					Souris traitées avec sérum normal		Souris non traitées					

Seules, les souris qui avaient reçu 5 doses mortelles ou moins survécurent; celles qui avaient reçu 25, 50 et 100 doses mortelles moururent avec un retard de vingt-quatre à quarante-huit heures sur les témoins. Nous pouvons en conclure que, comparée à l'injection de pneumocoques tués par la chaleur, l'injection de notre extrait n'engendre qu'une faible immunité.

**INHALATION D'EXTRAIT.** — 1° *Souris* : 3 souris, ayant subi 12 séances d'inhalation de 5 cent. cubes de la solution d'extrait, furent soumises à l'injection d'épreuve. Elles reçurent respectivement 5, 6, 25 et 50 doses mortelles et moururent aux huitième, sixième et cinquième jours, alors que tous les témoins mouraient en deux jours. Nos inhalations ont donc ralenti l'évolution de la septicémie pneumococcique; mais nous n'avons pas réussi à obtenir la survie de nos animaux d'expérience.

2° *Lapin* : Nous avons soumis un lapin aux mêmes séances d'inhalation que les souris ci-dessus, puis recherché le pouvoir protecteur de son sérum en injectant celui-ci à raison de 0 c. c. 5 sous la peau de 3 souris; douze heures après, nous procédions à l'injection intrapéritonéale d'épreuve; la première souris reçut 5 doses mortelles, et survécut; les deux autres reçurent 25 et 50 doses et moururent avec un retard de quarante-huit et de vingt-quatre heures sur les témoins. Une expérience préliminaire nous avait démontré qu'avant les inhalations, le sérum du lapin ne présentait pas de pouvoir protecteur. Nous avons donc obtenu, par l'inhalation de notre extrait, un sérum de lapin de faible valeur immunisante, beaucoup moins actif que celui dont nous démontrions les propriétés au tableau VI, 2, et qui avait été obtenu par inhalation de pneumocoques tués.

Il ressort cependant de nos expériences que l'extrait acidosoluble de pneumocoques a une valeur antigénique, faible à vrai dire, mais décelable par injection sous-cutanée et par la voie pulmonaire.

### Conclusions.

Nous exposons dans ce travail des essais d'infection et d'immunisation par inhalation de pneumocoques. Nous avons utilisé constamment une souche du type I de virulence constante.

1<sup>o</sup> INFECTION PAR LA VOIE PULMONAIRE.

Dans nos premières expériences, nous avons obtenu régulièrement l'infection mortelle en faisant inhaler à nos souris des pneumocoques virulents; le nombre d'inhalations nécessaires pour déterminer la pneumococcie était fort variable. Plus tard, la répétition de ces expériences nous a conduit à des résultats différents : nos souris supportaient de longues séries d'inhalations sans contracter de pneumococcie. Bref, nos expériences confirment celles de Lange : l'inhalation de pneumocoques virulents donne des résultats inconstants.

En revanche, la méthode préconisée par Neufeld, soit l'instillation nasale sous narcose d'une émulsion des mêmes pneumocoques virulents, a déterminé constamment la pneumococcie mortelle de la souris, très fréquemment accompagnée de pneumonie.

2<sup>o</sup> IMMUNISATION PAR INHALATION.

a) SOURIS. — Dans une série d'expériences, nous avons réussi à immuniser des souris en leur faisant inhaler des *pneumocoques tués* par la chaleur; les souris ainsi traitées ont résisté à l'inhalation et à l'instillation de pneumocoques virulents. L'injection intrapéritonéale d'épreuve, nous a permis d'apprécier mieux encore cette immunité : c'est ainsi que, après avoir subi des inhalations répétées pendant un mois, des souris ont supporté l'injection de 250 doses mortelles. En augmentant jusqu'à sept semaines la durée de notre traitement, nous sommes parvenu à immuniser des souris contre 500 doses. Il nous semble que le degré d'immunisation dépend de la quantité totale d'antigène inhalée : nous avons varié le nombre de séances d'inhalation et la quantité d'antigène inhalée à chaque séance sans observer, pour une quantité antigénique totale donnée, de différences appréciables.

Nous avons fait quelques essais d'immunisation de souris en leur faisant inhaler la *fraction acido-soluble* du pneumocoque. La valeur immunisante de cette fraction a été bien moins marquée que celle du pneumocoque entier; cependant nos expériences nous ont permis de constater que l'antigène contenu



dans cette fraction peut pénétrer dans l'organisme par la voie respiratoire et conférer à la souris un faible degré d'immunité.

b) **POUVOIR PROTECTEUR DU SÉRUM DE LAPIN IMMUNISÉ.** — L'inhalation de *pneumocoques tués* par la chaleur fait apparaître dans le sérum du lapin des substances immunisantes. Nos meilleurs résultats ont été obtenus avec le sérum de 2 lapins soumis pendant sept semaines à des inhalations bi-hebdomadaires d'émulsion concentrée de pneumocoques tués : douze heures après l'injection sous-cutanée de 0 c. c. 5 de ce sérum, des souris ont supporté l'injection intrapéritonéale de 500 doses mortelles, de même qu'elles supportaient l'inhalation et l'instillation de pneumocoques virulents. L'injection simultanée de 0 c. c. 5 de sérum sous la peau et de pneumocoques virulents dans le péritoine a permis d'obtenir la survie de souris qui avaient reçu jusqu'à 50 doses mortelles. En revanche, l'injection de ce sérum six heures après l'infection ne parvint pas à enrayer le cours de la pneumococcie.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] HEUBNER. *Klin. Wschr.*, 1925, p. 2099.
- [2] SILBERSCHMIDT. Ces *Annales*, 52, 1934, p. 690; *Schweiz. med. Wschr.*, 24, 1934, p. 548; *Festschrift Zangger*, 1934, p. 618.
- [3] VERDAN. *Thèse Zurich*, 1935.
- [4] EGUCHI. *Z. Hyg.*, 105, 1925, p. 74.
- [5] STILLMANN. *Journ. exp. Med.*, 40, 1924, p. 567.
- [6] STILLMANN. *Journ. exp. Med.*, 45, 1927, p. 1057.
- [7] STILLMANN. *Journ. inf. Dis.*, 54, 1934, p. 339.
- [8] BRUNZEMA. *Z. Hyg.*, 112, 1931, p. 708.
- [9] LANGE et KESCHISCHIAN. *Z. Hyg.*, 103, 1924, p. 569.
- [10] LANGE. *Z. Hyg.*, 102, 1924, p. 224.
- [11] LANGE et NOVOSSELSKI. *Z. Hyg.*, 104, 1925, p. 648.
- [12] NEUFELD et KUHN. *Z. Hyg.*, 116, 1935, p. 697.
- [13] SHOPE. *Journ. exp. Med.*, 60, 1934, p. 49.
- [14] ANDREWES, LAIDLAW et SMITH. *The Lancet*, 1934, II, p. 859.
- [15] NEUFELD et KUHN. *Z. Hyg.*, 117, 1935, p. 540.
- [16] NEUFELD et COLLIER. *Z. Hyg.*, 117, 1935, p. 429.
- [17] RAKE. *Journ. exp. Med.*, 63, 1936, p. 17.
- [18] AVERY et GOEBEL. *Journ. exp. Med.*, 58, 1933, p. 731.
- [19] AVERY et MORGAN. *Journ. exp. Med.*, 42, 1925, p. 347.
- [20] FELTON. *Journ. immun.*, 23, 1932, p. 405; 27, 1934, p. 379; FELTON, SUTLIFF et STEELE. *Journ. inf. Dis.*, 56, 1935, p. 401.
- [21] YOSHIOKA. *Z. Hyg.*, 97, 1923, p. 386.
- [22] KILIAN. *Z. Hyg.*, 97, 1923, p. 386; 102, 1924, p. 179 et 279; 103, 1924, p. 607; 104, 1925, p. 489; *Klin. Wschr.*, 1925, p. 2166.

## SUR DES ANTICORPS A AFFINITÉS MULTIPLES

par KURT MEYER.

(Laboratoire de la Fondation franco-américaine, Berck-Plage.)

Nous désignons par *spécificité sérologique* le fait qu'un anticorps ne réagit qu'avec son antigène homologue. Les recherches de ces dernières années, surtout celles de Landsteiner, ont démontré que la spécificité est conditionnée par l'individualité chimique de l'antigène. En général, la molécule des antigènes est complexe et constituée par plusieurs groupes chimiques; aussi peut-on se demander si la spécificité dépend de la molécule entière ou de certains de ces groupes seulement. Dans les *antigènes artificiels*, préparés par la combinaison d'un protide avec certains groupes chimiques, la spécificité n'est déterminée que par ce groupe « prosthétique »; car les anticorps formés dans l'organisme animal, ne réagissent plus avec le protide d'origine; ils se combinent cependant avec d'autres protides qui contiennent le même groupe prosthétique.

Quand il s'agit par contre des *antigènes naturels*, le problème de la correspondance entre antigène et anticorps devient beaucoup plus compliqué : nous savons, par exemple, que les innombrables protides sont constitués presque tous par les mêmes acides aminés, combinés et disposés seulement de manière différente. La conclusion s'impose donc que ce n'est pas seulement la nature chimique, mais aussi et surtout la *disposition stérique* des composants de la molécule qui détermine le caractère spécifique.

Comment expliquer que l'anticorps « reflète » rigoureusement la structure de l'antigène? Doit-on admettre qu'à chaque groupe de l'antigène correspond un groupe de l'anticorps et qu'en plus leur disposition stérique est concordante?

La question de savoir si les différents groupes de l'antigène réagissent avec autant de groupes correspondants dans l'anticorps, trouvera peut-être plus facilement une réponse quand

on étudiera d'abord cette catégorie de combinaisons chimiques ou plutôt physico-chimiques où les groupes constituants ne sont pas liés par les valences principales des atomes, mais par les valences secondaires ou résiduelles des molécules. Nous pensons aux combinaisons de protides et lipides, de protides et glucides, de glucides et de lipides, qui jouent un rôle si important parmi les constituants des cellules animales et végétales. Chaque groupement de ces substances représentant un antigène ou du moins un haptène faciles à identifier par nos méthodes sérologiques, on peut vérifier si un anticorps formé contre le complexe entier manifeste plusieurs affinités séparées et si ces affinités dépendent de groupes différents de l'anticorps.

Nous avons démontré, il y a quelques années [7], que de tels anticorps à affinités multiples existent en effet. Il s'agit des *anticorps du type Forssman d'origine bactérienne*.

On sait depuis la découverte de Forssman qu'on peut provoquer la formation d'hémolysines anti-mouton en immunisant des lapins par les organes de certaines espèces d'animaux (cobaye, cheval, etc.). Il s'ensuit que les cellules de ces organes et les globules de mouton contiennent un antigène commun qu'on appelle l'antigène hétérogénétique ou hétérophile ou, tout court, antigène de Forssman (F).

Certaines espèces de bactéries (B. dysentérique de Shiga, différents types du groupe Salmonella) provoquent également la production d'hémolysines anti-mouton chez le lapin. Mais *ces hémolysines d'origine bactérienne ont un caractère particulier*. Elles sont fixées par les globules de mouton et les organes des animaux du type « cobaye » et, en plus, par les bactéries homologues mais elles ne réagissent pas avec d'autres espèces de bactéries, même très voisines, qui contiennent, elles aussi, l'antigène F. *Elles manifestent donc non seulement une affinité spécifique pour l'antigène F, mais aussi pour un second antigène particulier à chaque espèce bactérienne*.

Nous avons montré [6] pour le B. dysentérique de Shiga que l'antigène F est étroitement lié au polysaccharide spécifique de ce bacille. Chacune des parties constituantes de ce complexe possédant les qualités d'un haptène, on comprend bien qu'un anticorps provoqué par ce complexe présente des affinités pour

ses deux constituants. Notons, cependant, qu'il peut se former, en plus, des anticorps plus simples correspondant à une des composantes seulement. Ainsi, ces antisérums contiennent toujours, à côté des hémolysines, des anticorps qui ne réagissent qu'avec le groupe spécifique du bacille (agglutinines ordinaires).

*L'antigène F n'est pas lié chez toutes les bactéries au polysaccharide spécifique.* Ce n'est pas le cas, par exemple, pour le pneumocoque [3]. Aussi, provoque-t-il, chez le lapin, la formation d'hémolysines F ordinaires et est-il capable, d'autre part, de fixer les hémolysines des sérums anti-rein de cobaye. Ce fait permet de démontrer une fois plus, d'une manière indirecte, la deuxième affinité des hémolysines du type Shiga.

Comme nous l'avons trouvé, il y a quelques années [6], ces « hémolysines » agglutinent les bacilles homologues. A l'époque, nous avons interprété cette agglutination comme une conséquence de la réaction de l'hémolysine avec l'antigène F contenu dans les bacilles de Shiga. Mais des expériences ultérieures nous ont montré que des pneumocoques ayant fixé de grandes quantités d'hémolysines F, ne sont pas agglutinés.

Il semble donc que *la réaction entre antigène et anticorps F n'est pas suivie d'une agglutination*, ce qui concorde d'ailleurs avec le fait, depuis longtemps connu, que les hémolysines F n'agglutinent pas ou très faiblement les globules du mouton. Si par contre les « hémolysines Shiga » agglutinent le B. de Shiga, la conclusion s'impose que c'est leur *réaction avec le groupe spécifique du polysaccharide qui provoque l'agglutination* et que cette réaction se fait par une deuxième affinité dont les hémolysines F ordinaires ne disposent pas.

Pour revenir au problème posé plus haut : existe-il des faits qui permettent de démontrer que *la double affinité de ces hémolysines dépend de deux différents groupes fixateurs*?

Nous croyons que les observations que nous allons exposer, nous permettront de répondre affirmativement à cette question. Dans la disposition de nos expériences, nous sommes parti de l'hypothèse que *l'union entre l'antigène et l'anticorps est plus solide quand elle se fait par deux groupes que par un seul*. Nous avons donc étudié la solidité de la fixation de l'anticorps sous des conditions variées.



A. — EXPÉRIENCES AVEC LES HÉMOLYSINES  
DU TYPE FORSSMAN SPÉCIFIQUES POUR LE B. DE SHIGA.

Dans une première série d'expériences, nous avons opéré avec les anticorps F provoqués par immunisation de lapins par le bacille de Shiga. Nous désignerons ultérieurement par groupe F l'antigène Forssman et par groupe Sh l'antigène qui est spécifique pour le bacille de Shiga. Nous indiquerons par les mêmes lettres les affinités correspondantes des anticorps. Nous dirons donc simplement les anticorps FSh.

Nous avons comparé :

1° La fixation des hémolysines (FSh) au B. de Shiga (F + Sh) avec celles des mêmes hémolysines aux globules de mouton (F).

2° La fixation des hémolysines (FSh) au B. de Shiga (F + Sh) avec celles des hémolysines Forssman ordinaires (F) au pneumocoque (F).

3° La fixation des hémolysines (FSh) au B. de Shiga (F + Sh) avec celles des agglutinines Shiga (Sh) au B. de Shiga (F + Sh).

Pour déterminer la solidité de la fixation, nous avons soumis les complexes antigène-anticorps à la dissociation, par le chauffage à 60° en eau physiologique, et nous avons fait le titrage des anticorps dans le liquide de dissociation.

1° COMPARAISON DE LA FIXATION DES HÉMOLYSINES ANTI-SHIGA AU B. DE SHIGA ET AUX GLOBULES DE MOUTON. — Nous avons procédé comme suit :

On ajoute 0 c. c. 1 de sérum anti-Shiga hémolytique = 50 unités d'hémolysine (1), d'une part, à 0 c. c. 3 de globules de mouton (3 p. 100), d'autre part, à 0 c. c. 5 d'une émulsion de B. de Shiga, contenant à peu près 10 millions de germes par centimètre cube. On laisse une heure à la glacière. On centrifuge, on décante le liquide, on lave et émulsionne les sédiments dans 2 cent. cubes d'eau physiologique. On chauffe les suspensions pendant quinze minutes dans un bain-marie à 56° pour les globules et à 60° pour les bacilles. On centrifuge

(1) Nous entendons par unité d'hémolysine la quantité minimum de sérum qui hémolyse en trente minutes à 37°, 0 c.c. 25 de globules (6 p. 100) en présence de 0 c.c. 25 de sérum de cobaye au 1/20.

rapidement dans un manteau d'eau chaude, on décante et on fait le titrage de ces liquides en même temps que ceux des liquides antérieurs.

La tableau I montre que les hémolysines sont complètement fixées par les globules de mouton et presque totalement par les bacilles de Shiga. Quant à la dissociation, elle est nulle pour les bacilles tandis qu'elle atteint 50 p. 100 pour les globules : on retrouve à peu près 25 unités dans le liquide de dissociation. Notons d'ailleurs que nous avons déjà fait la même observation [8] il y a dix ans, sans en pouvoir donner une explication.

TABLEAU I. — Pouvoir hémolytique du sérum anti-Shiga; 1° avant absorption; 2° après absorption par des B. Shiga; 3° par des globules de mouton; 4° du liquide de dissociation du complexe B. Shiga + sérum anti-Shiga; 5° de celui du complexe globule de mouton + sérum anti-Shiga.

	SÉRUM ANTI-SHIGA 1 : 50			LIQUIDE DE DISSOCIATION du complexe (2 cent. cubes)	
	Avant absorption	Après absorption par		B. Shiga + sérum anti-Shiga	Globules de mouton + sérum anti-Shiga
		B. Shiga	Globules de mouton		
0 c.c. 5 . . . . .	<i>c</i>	<i>tr</i>	<i>c</i>	0	<i>c</i>
0 c.c. 25 . . . . .	<i>c</i>	0	<i>pc</i>	0	<i>c</i>
0 c.c. 4 . . . . .	<i>c</i>	0	<i>i</i>	0	<i>c</i>
0 c.c. 05 . . . . .	<i>i</i>	0	<i>tr</i>	0	<i>pc</i>
0 c.c. 2 . . . . .	<i>tr</i>	0	0	0	<i>i</i>

*Nota.* — 0 c.c. 25 globules de mouton (6 p. 100); 0 c.c. 25 sérum de cobaye 1 : 20; volume total : 1 c.c. 25; séjour à l'étuve trente minutes; *c*, hémolyse complète; *pc*, hémolyse presque complète; *i*, hémolyse incomplète; *tr*, trace d'hémolyse.

2° COMPARAISON DE LA FIXATION DE L'HÉMOLYSINE SHIGA AU B. DE SHIGA ET DE L'HÉMOLYSINE FORSSMAN ORDINAIRE AU PNEUMOCOQUE. — La différence que nous venons de constater ne s'explique-t-elle pas simplement par le fait que nous avons fait fixer l'anticorps, une fois par un globule et l'autre fois par un bacille?

Cette question se prête à une vérification expérimentale. Comme nous avons vu tout à l'heure, l'antigène F n'est pas lié

au polysaccharide spécifique chez les pneumocoques, et d'autre part, ceux-ci fixent les anticorps F ordinaires. Il ne nous restait donc qu'à examiner si chez les pneumocoques la fixation des anticorps F est aussi irréversible que chez les B. de Shiga.

Des pneumocoques du type I (0 c. c. 5 d'une émulsion contenant 10 millions de germes par centimètre cube) étaient traités avec 0 c. c. 4 d'un sérum anti-rein de cobaye = 20 unités hémolytiques. Ils fixaient 10 unités. Après lavage, on les chauffait en eau physiologique (1 cent. cube) à 60°, et on titrait la teneur en hémolysines du liquide de dissociation.

TABLEAU II. — Pouvoir hémolytique du sérum anti-rein de cobaye avant et après absorption par des pneumocoques et du liquide de dissociation du complexe pneumocoques + sérum anti-rein de cobaye.

	SÉRUM ANTI-REIN de cobaye 1 : 20		LIQUIDE de dissociation (1 cent. cube) du complexe pneumocoque + sérum anti-rein de cobaye
	avant absorption	après absorption par pneumocoques	
0 c. c. 5 . . . . .	c	c	c
0 c. c. 25 . . . . .	c	c	c
0 c. c. 1 . . . . .	c	pc	i
0 c. c. 05 . . . . .	pc	i	tr
0 c. c. 02 . . . . .	i	0	0

Le tableau II montre que la moitié à peu près des hémolysines est remise en liberté par le chauffage. Ce n'est donc pas la localisation dans une bactérie qui confère une avidité particulière à l'antigène F.

3° COMPARAISON DE LA FIXATION DE L'HÉMOLYSINE SHIGA ET DE L'AGGLUTININE SHIGA AU B. DE SHIGA. — Nous avons comparé la fixation de l'hémolysine (FSh) avec celle des agglutinines ordinaires (Sh). Comme notre sérum hémolytique contenait des agglutinines ordinaires à côté des hémolysines, on ne pouvait pas l'utiliser tel que si on voulait opérer avec les anticorps FSh seuls. Il fallait donc isoler ceux-ci. Dans ce but nous avons traité des globules de mouton par le sérum hémolytique anti-Shiga, pour dissocier ensuite les hémolysines fixées par le chauffage en eau physiologique à 56°. Le liquide de dissociation présentait un pouvoir agglutinant considérable.

Pour notre expérience nous avons sensibilisé 0 c. c. 5 d'une émulsion de B. de Shiga, contenant 10 millions de bacilles par centimètre cube, par 50 unités d'agglutinine en utilisant, soit ce liquide de dissociation, soit un sérum anti-Shiga ne contenant que des agglutinines ordinaires. Nous avons laissé ces mélanges trente minutes à l'étuve et soixante minutes à la glacière. Le traitement ultérieur était le même que dans l'expérience précédente. Les différents liquides furent titrés au point de vue de leur teneur en agglutinines anti-Shiga.

TABLEAU III. — Pouvoir agglutinant des liquides de dissociation. 1° du complexe B. de Shiga + hémolysine anti-Shiga; 2° du complexe B. de Shiga + agglutinine anti-Shiga ordinaire.

	LIQUIDE DE DISSOCIATION (1 cent. cube) du complexe	
	B. Shiga + hémolysine anti-Shiga	B. Shiga + agglutinine anti-Shiga
0 c. c. 5 . . . . .	—	++
0 c. c. 25 . . . . .	—	+
0 c. c. 1 . . . . .	—	±

*Nota.* — 0 c. c. 5 d'une émulsion de 10 millions de B. de Shiga par centimètre cube + quantités décroissantes de liquide de dissociation. Volume total : 1 cent. cube. Lecture après un séjour de quatre heures à l'étuve.

Le résultat correspondait à celui qu'avaient donné les expériences précédentes (tableau III). Les bacilles avaient fixé toutes les agglutinines. Lors du chauffage, les bacilles traités par les anticorps FSh, ne dissociaient rien, tandis que les bacilles porteurs des agglutinines ordinaires Sh rendaient à peu près 20 p. 100 des agglutinines fixés.

4° EXAMEN DE LA FIXATION DE L'AGGLUTININE ANTI-PNEUMOCOCCIQUE AU PNEUMOCOQUE. — On pouvait se demander si la réversibilité de l'union agglutinine-B. de Shiga n'était pas due au fait que l'anticorps (Sh) n'était que partiellement homologue à l'antigène (F + Sh). Nous avons donc examiné la fixation de l'agglutinine pneumococcique au pneumocoque chez lequel l'antigène spécifique n'est pas lié à l'antigène F. Dans ce but nous avons traité 5 millions de pneumocoques avec 1 cent. cube de sérum antipneumococcique 1/10 = 20 unités d'agglutinine.



Quant aux détails de la technique, notre procédé était le même que dans l'expérience précédente.

TABLEAU IV. — Pouvoir agglutinant du sérum antipneumococcique (type I) avant et après absorption par des pneumocoques (type I) et du liquide de dissociation du complexe pneumocoque + sérum antipneumococcique.

	SÉRUM antipneumococcique 1/10		LIQUIDE de dissociation du complexe pneumocoque + sérum antipneumococcique
	avant absorption	après absorption par pneumocoques	
	—	—	—
0 c.c. 5 . . .	+++	+++	+++
0 c.c. 25 . . .	+++	±	+
0 c.c. 1 . . .	++	—	—
0 c.c. 05 . . .	±	—	—

Du tableau IV ressort que de 15 unités d'agglutinines préalablement fixées à peu près 5 ont été remises en liberté par le chauffage. Nous voyons donc une dissociation considérable quoique dans ce cas l'anticorps ait été fixé à un antigène strictement homologue.

#### RÉSUMÉ DE LA PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

L'ensemble des expériences qui viennent d'être exposées montre que l'union entre antigène et anticorps est irréversible quand l'anticorps peut réagir avec l'antigène par ses deux affinités. Elle est réversible quand l'union se fait par une seule affinité, une deuxième manquant soit à l'anticorps, soit à l'antigène, soit aux deux.

#### B. — EXPÉRIENCES AVEC LES HÉMOLYSINES DU TYPE FORSSMAN SPÉCIFIQUES POUR LES GLOBULES HUMAINS A.

On aurait pu objecter, qu'en comparant la fixation de l'anticorps, d'une part, à un globule rouge et, d'autre part, à un bacille, nous n'avons pas assez tenu compte de la diversité des conditions extérieures dans ces deux cas : elle seule pourrait déjà expliquer les différences que nous avons observées.

Les anticorps que nous avons examinés dans une deuxième

série d'expériences ne peuvent pas soulever cette objection. Il s'agit de ces *hémolysines Forssman* qui présentent une affinité spécifique pour le groupe A du sang humain. Schiff et Adelsberger [41] ont montré qu'en immunisant des lapins avec des globules humains A, on peut obtenir des hémolysines du type Forssman, qui sont fixées par ces mêmes globules A, mais pas par les globules humains des autres groupes; nous désignerons ces hémolysines par anticorps FA. Douées d'une affinité double elles sont tout à fait analogues aux hémolysines provoquées par le bacille de Shiga et, comme pour celui-ci, il faut conclure que les globules humains A contiennent l'antigène Forssman à côté du groupe spécifique A. D'ailleurs, d'après les recherches de Schiff [2] et Freudenberg [4] et leurs collaborateurs, l'antigène F est également combiné avec le polysaccharide spécifique du groupe A.

Pour l'analyse des anticorps FA, nous avons procédé comme dans les expériences précédentes :

Nous avons comparé :

1° La fixation des hémolysines (FA) aux globules humains A ( $F + A$ ) avec celle des mêmes hémolysines aux globules de mouton (F).

2° La fixation des hémolysines (FA) aux globules humains A neufs ( $F + A$ ) avec celle aux globules humains A traités par sérum anti-A ordinaire (F).

3° La fixation des hémolysines (FA) aux globules humains A ( $F + A$ ) avec celle des agglutinines anti-A (A) aux globules humains A ( $F + A$ ).

4° La fixation des hémolysines (FA) aux globules humains A ( $F + A$ ) avec celle des hémolysines Forssman ordinaires (F) aux globules de mouton (F).

1° COMPARAISON DE LA FIXATION DES HÉMOLYSINES ANTI-A AUX GLOBULES HUMAINS A ET AUX GLOBULES DE MOUTON. — Pour comparer la solidité de la fixation par les globules de mouton (F) d'une part, et par les globules humains A ( $F + A$ ) d'autre part, nous avons sensibilisé les deux sortes de globules par la même quantité d'hémolysine (25 unités), pour chauffer ensuite les globules sensibilisés quinze minutes à 56° en eau physiologique (Tableau V).

TABLEAU V. — Pouvoir hémolytique du sérum anti-globules humains A : 1° avant absorption; 2° après absorption par des globules humains A; 3° après absorption par des globules de mouton; 4° du liquide de dissociation du complexe globules humains A — sérum anti-A; 5° de celui du complexe globules de mouton + sérum anti-A.

	SÉRUM ANTI-A 1 : 20			LIQUIDE DE DISSOCIATION du complexe	
	Avant absorption	Après absorption par		Globules humains A + sérum anti-A	Globules de mouton + sérum anti-A
		globules humains A	globules de mouton		
0 c.c. 5 . . . .	<i>c</i>	0	<i>c</i>	<i>tr</i>	<i>c</i>
0 c.c. 25 . . . .	<i>c</i>	0	<i>i</i>	0	<i>c</i>
0 c.c. 1 . . . .	<i>c</i>	0	<i>tr</i>	0	<i>pc</i>
0 c.c. 05 . . . .	<i>pc</i>	0	0	0	<i>i</i>
0 c.c. 02 . . . .	<i>i</i>	0	0	0	0

Il ressort du tableau V une dissociation considérable pour le sang de mouton et une dissociation pratiquement nulle pour le sang humain A (1).

2° COMPARAISON DE LA FIXATION DES HÉMOLYSINES FORSSMAN ANTI-A AUX GLOBULES HUMAINS A NEUFS ET AUX GLOBULES A TRAITÉS PAR SÉRUM ANTI-A. — L'expérience précédente nous a montré que l'anticorps AF est beaucoup plus solidement fixé par les globules humains A que par les globules de mouton. Mais cette différence ne pourrait-elle être due à ce que nous avons opéré avec deux différentes espèces de globules? Pour répondre à cette objection, nous avons changé artificiellement les globules humains A + F en globules F en bloquant le groupe A. Ce blocage nous l'avons fait en traitant les globules par une

(1) Nous n'ignorons pas que, d'après Hirszfeld [5], les globules de mouton peuvent contenir le groupe A du sang humain. Nous avons constaté que c'était le cas pour les quatre sangs de mouton avec lesquels nous avons opéré. On pourrait donc se demander si ces globules, possédant les deux groupes A et F, ne devraient pas fixer les anticorps AF aussi solidement que les globules humains A. Mais, attendu que les globules de mouton ne contiennent que facultativement le groupe A, on peut admettre qu'au cas de sa présence, il n'est pas lié avec le groupe F dans le même complexe moléculaire, comme nous le supposons pour les globules humains A. On ne peut donc pas s'attendre ici à une fixation aussi solide des hémolysines AF que par les globules humains A.

grande quantité de sérum anti-A ne contenant pas d'hémolysines Forssman.

Voici notre procédé : On ajoute à 0 c.c. 5 de globules humains A, 0 c.c. 25 de sérum anti-A (100 unités d'agglutinine). Après un séjour d'une heure à la glacière, on centrifuge, on lave le sédiment et on ajoute 50 unités hémolytiques de sérum FA. On traite par la même quantité de sérum FA. des globules A neufs et des globules de mouton. Après un nouveau séjour d'une heure à la glacière, on fait la dissociation de la manière déjà décrite.

TABLEAU VI. — Pouvoir hémolytique des liquides de dissociation : 1° du complexe globules humains A + sérum anti-A; 2° du complexe globules humains A bloqué + sérum anti-A; 3° du complexe globules de mouton + sérum anti-A.

	LIQUIDE DE DISSOCIATION DU COMPLEXE		
	Globules humains A + sérum anti-A	Globules humains A bloqués + sérum anti-A	Globules de mouton + sérum anti-A
0 c.c. 1 . . . . .	0	c	c
0 c.c. 05 . . . . .	0	p-c	c-pc
0 c.c. 02 . . . . .	0	i	pc-i
0 c.c. 01 . . . . .	0	0	i

Le tableau VI montre que les globules A neufs ont retenu toutes les hémolysines; par contre, les globules A traités par le sérum anti-A en ont rendu à peu près 50 p. 100. Ils se comportent à ce point de vue presque comme les globules de mouton chez lesquels la dissociation atteint 75 p. 100. Il s'ensuit qu'au moment où les anticorps FA ne peuvent plus se fixer par leurs deux affinités, mais seulement par leur affinité F, leur union avec les globules FA est aussi réversible que celle avec les globules de mouton qui ne peut se faire que par l'affinité F (1).

(1) Nous avons fait une expérience analogue avec le B. de Shiga. Ici, le résultat a été différent. Nous avons vu que les bacilles qui étaient préparés par une grande quantité d'agglutinines ordinaires et, par conséquent, fortement agglutinés, fixaient beaucoup moins d'hémolysines que des bacilles neufs ou des bacilles témoins qui étaient aussi fortement agglutinés par une trace de sulfate d'aluminium. On aurait pu croire que l'affinité des bacilles pour les hémolysines était en effet affaiblie. Mais l'expérience de dissociation montrait que la faible quantité d'anticorps qui étaient fixés, l'était toujours d'une manière irréversible. Il semble donc que le blocage du groupe Sh empêche complètement la réaction des anticorps FSh avec le groupe F, et



3° COMPARAISON DE LA FIXATION DES HÉMOLYSINES FORSSMAN ANTI-A, ET DES HÉMOLYSINES FORSSMAN ORDINAIRES AUX GLOBULES DE MOUTON. — Bien que la dernière expérience ait déjà montré que l'antigène F ne présente pas une affinité particulière pour un anticorps correspondant, il était intéressant de déterminer la solidité de la fixation des anticorps F à l'antigène Forssman libre, tel qu'il se trouve dans les globules de mouton, et d'examiner au même point de vue les hémolysines anti-mouton isogénétiques.

Nous avons donc traité 0 c. c. 5 de globules de mouton par 50 unités hémolytiques, d'une part, d'un sérum anti-rein de cobayes F; d'autre part, d'un sérum anti-globules de mouton: après les avoir lavés, nous les avons chauffés comme d'habitude. Les liquides de dissociation ont été titrés au point de vue de leur teneur en hémolysine (tableau VII).

TABLEAU VII. — Pouvoir hémolytique des liquides de dissociation :  
1° du complexe globules de mouton + sérum anti-rein de cobaye;  
2° du complexe globules de mouton + sérum anti-globules de mouton.

	LIQUIDE DE DISSOCIATION DU COMPLEXE	
	Globules de mouton + sérum anti-rein de cobaye	Globules de mouton + sérum anti-globules de mouton
0 c. c. 25 . . . . .	c	c
0 c. c. 1 . . . . .	pc-i	c
0 c. c. 05 . . . . .	i	pc
0 c. c. 02 . . . . .	0	pc-i

On voit qu'à peine 20 p. 100 des hémolysines F préalablement fixés ont été dissociés. Le pourcentage est plus faible que celui qu'on observe en opérant avec les hémolysines isogénétiques (50 p. 100). Il prouve une avidité assez considérable des hémolysines ordinaires du type F, qui reste cependant bien inférieure à celle des hémolysines F spécifiques vis-à-vis de leur antigène homologue.

4° COMPARAISON DE LA FIXATION DE L'HÉMOLYSINE FORSSMAN ANTI-A ET DE L'AGGLUTININE ANTI-A ORDINAIRE. — En dernier lieu,

que, par conséquent, cette réaction ne se fait que par l'intermédiaire du groupe Sh. Ce fait est d'ailleurs en concordance avec l'observation faite avec W. T. J. Morgan [9], à savoir que la réaction du polysaccharide spécifique perdu B. de Shiga avec les anticorps Sh entrave celle vis-à-vis des anticorps F.

nous avons comparé la solidité de la fixation des anticorps FA aux globules A avec celle des agglutinines anti-A ordinaires. Nos sérums anti-A contenant ces anticorps A ordinaires, à côté des anticorps FA, il fallait d'abord séparer les deux catégories d'anticorps. Nous avons donc fixé les anticorps FA à des globules de mouton pour les dissocier ensuite par chauffage. Le liquide de dissociation agglutinait fortement les globules humains A. Les agglutinines anti-A ordinaires étaient fournies par le sérum d'un lapin préparé avec des globules A, qui n'avait pas produit d'anticorps AF, comme c'est souvent le cas. Après absorption des agglutinines anti-humains générales par des globules humains du groupe O, ce sérum ne contenait que des agglutinines anti-A.

On traitait 0 c. c. 5 de globules humains A (3 p. 100) par 50 unités d'agglutinines FA d'une part et d'agglutinines A d'autre part. Après centrifugation et lavage, on chauffait les globules émulsionnés en 2 cent. cubes d'eau physiologique pendant quinze minutes à 56°.

Les liquides débarrassés des globules par centrifugation furent titrés au point de vue de leur teneur en agglutinines avec des globules humains A. Tandis que le liquide FA ne contenait pas d'agglutinines du tout, 20 unités se retrouvèrent dans le liquide A (tableau VIII).

TABLEAU VIII. — Pouvoir agglutinant vis-à-vis de globules humains A, des liquides de dissociation : 1° du complexe globules humains A + sérum anti-A hémolytique ; 2° du complexe globules humains A + sérum anti-A ordinaire.

	LIQUIDE DE DISSOCIATION DU COMPLEXE	
	Globules humains A + hémolysine anti-A	Globules humains A + agglutinine anti-A ordinaire
0 c.c. 5 . . . . .	—	—
0 c.c. 25 . . . . .	—	+++
0 c.c. 1 . . . . .	—	++
0 c.c. 05 . . . . .	—	+
		—

0 c.c. 5 de liquide de dissociation + 0 c.c. 1 d'une émulsion de globules humains A à 3 p. 100. Lecture après un séjour de trente minutes à l'étuve et de six heures au laboratoire.

## RÉSUMÉ DE LA DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

Comme dans le cas des anticorps FSh, nous voyons dans les expériences avec les anticorps AF une union irréversible quand ils sont fixés à un antigène qui contient les deux groupes correspondants (globules humains  $A = F + A$ ), une fixation réversible quand les anticorps FA se combinent avec le seul antigène F (globules de mouton ou globules humains A « bloqués ») ou quand les anticorps A ne réagissent qu'avec le groupe A de l'antigène  $F + A$ .

## DISCUSSION DES FAITS EXPÉRIMENTAUX.

Nous avons vu qu'il y a des *anticorps à deux affinités*, correspondant aux deux groupes différents d'un antigène complexe. Nous avons fait réagir ces anticorps, soit par une, soit par les deux affinités en comparant la *solidité de leur fixation*. Ensuite nous les avons comparés, au même point de vue, avec des anticorps se combinant par une seule affinité. De l'ensemble des expériences, *il résulte une différence très nette, suivant que l'union de l'anticorps avec l'antigène se fait par une ou deux affinités : réversibilité dans le premier cas, irréversibilité dans le second.*

Quelles conclusions peut-on tirer de ces résultats quant au problème de la pluralité de groupes fixateurs dans un anticorps?

Le fait que la fixation d'un anticorps à deux affinités est moins solide quand il ne peut réagir que par une de ses affinités ne prouve pas nécessairement l'existence de deux différents groupes fixateurs. On comprendrait qu'un anticorps, quelle que soit sa structure, se fixe moins bien quand il se trouve vis-à-vis d'un antigène qui ne lui est que partiellement homologue. Mais comment expliquer qu'un anticorps à *une* affinité s'unit moins solidement avec l'antigène strictement homologue, qu'un anticorps à deux affinités avec son antigène correspondant?

Nous croyons que la *supposition de deux groupes fixateurs* différents peut donner de ce fait l'explication la plus simple et la plus satisfaisante. Évidemment, une fixation double sera plus solide qu'une fixation par un seul groupe.

Avant de conclure à l'existence de différents groupes fixateurs dans les anticorps qui correspondent aux *antigènes moins complexes*, il faudra appuyer nos constatations par d'autres expériences. Toutefois, nous croyons que déjà le fait de l'avidité particulière des anticorps complexes a un intérêt aussi bien théorique que pratique.

On sait depuis longtemps que l'avidité d'anticorps d'apparence identiques peut présenter de grandes différences. La quantité des groupes fixateurs ne serait-elle pas en jeu dans ce phénomène?

D'autre part, on peut admettre que plus un anticorps est avide, plus il sera actif vis-à-vis des microbes homologues. On aura donc tout intérêt à produire des antisérums qui contiennent de tels anticorps.

Les recherches des dernières années (Boivin et Mesrobian [4], Raistrick et Topley [10]), ont montré qu'il existe, dans les bactéries, des antigènes d'une complexité et en même temps d'une labilité extraordinaires. Ne pourrait-on pas admettre, qu'à ces antigènes correspondent des anticorps aussi complexes, présentant une avidité particulière?

Peut-être la supériorité des méthodes d'immunisation qui emploient des microbes vivants est-elle due au fait que, dans ces conditions, les antigènes complexes ne sont pas exposés aux dégradations qu'ont subies certainement les vaccins tués. Ils peuvent donc provoquer la formation d'anticorps d'une complexité correspondante et, par conséquent, d'une avidité supérieure.

#### CONCLUSIONS.

Les hémolysines du type Forssman provoquées chez le lapin par immunisation avec le B. de Shiga ou avec des globules humains du groupe A manifestent deux affinités spécifiques différentes : l'une pour l'antigène de Forssman, l'autre pour l'antigène spécifique de l'espèce ou du groupe.

Se distinguant à ce point de vue des hémolysines de Forssman ordinaires et des agglutinines ordinaires, ces anticorps sont si solidement fixés par leur antigène homologue que, lors du chauffage à 60°, ils ne sont pas dissociés du tout ou en quantité négligeable. La dissociation des mêmes anticorps se fait, par



contre, facilement, quand la fixation à l'antigène dépend d'une seule affinité.

La solidité extraordinaire de la fixation de ces anticorps à deux affinités justifie la conclusion que leur union avec l'antigène homologue se fait par deux groupes fixateurs différents.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. BOIVIN, J. MESROBÉANU et L. MESROBÉANU. *C. R. Soc. Biol.*, **113**, 1933, p. 490; **114**, 1933, p. 307; **115**, 1933, p. 304, 306 et 309; **117**, 1934, p. 271 et 273.
- [2] B. BRAHN, F. SCHIFF et F. WEINMANN. *Klin. Wochenschr.*, 1932, p. 1592.
- [3] M. EISLER et A. HOWARD. *Z. Immun.*, **76**, 1932, p. 461.
- [4] K. FREUDENBERG et H. EICHEL. *Ann. d. Chemie*, **510**, 1934, p. 240.
- [5] L. HIRSZFELD et HALBER. *Z. Immun.*, **59**, 1928, p. 17.
- [6] K. MEYER. a) *Z. Immun.*, **68**, 1930, p. 98; b) **69**, p. 134; c) **69**, 1931, p. 499.
- [7] K. MEYER. *Z. Immun.*, **71**, 1931, p. 331.
- [8] K. MEYER. *Z. Immun.*, **45**, 1925, p. 97.
- [9] K. MEYER et W. T. J. MORGAN. *Brit. Journ. Exp. Pathol.*, **16**, 1935, p. 476.
- [10] H. RAISTRICK et W. W. C. TOPLEY. *Brit. Journ. Exp. Pathol.*, **15**, 1934, p. 113.
- [11] F. SCHIFF et L. ADELSBERGER. *Z. Immun.*, **40**, 1924, p. 335.

# **ROLE DU SYSTÈME NERVEUX DANS L'IMMUNITÉ. IRRITATION CONDITIONNELLE, INHIBITION CONDITIONNELLE ET LEUCOCYTOSE**

par D. A. SCHAMBOUROFF et O. P. BELIKOWA.

*(Institut clinique de la contrée de Moscou.)*

L'idée que le système nerveux pourrait jouer un rôle dans l'immunité vint à l'un de nous en 1926. Dans son rapport sur l'immunité, présenté en 1927 à la Société des médecins de l'hôpital de Babouchine (aujourd'hui Institut clinique de la contrée de Moscou), Schambouroff formula ainsi les bases principales de cette hypothèse. Comme suite à une action prolongée d'un antigène au cours d'une infection), ou sous l'influence d'une inoculation répétée, les cellules parviennent à acquérir une certaine adaptation, une capacité de réagir d'une manière spécifique contre une nouvelle injection du même antigène, autrement dit, à acquérir un réflexe conditionnel, celui-ci devant suivre les lois émises par Pawloff pour les réflexes conditionnels et absolus. L'élaboration de ce réflexe s'accomplit par le système nerveux. Ainsi l'immunité doit être considérée ou bien comme un réflexe absolu (inné), obtenu au cours de la philogénèse, ou comme un réflexe acquis pendant la vie individuelle. Ces principes n'étaient pas fondés sur des expériences directes, mais plutôt sur des observations de l'évolution des maladies infectieuses et de la valeur, bien reconnue par les cliniciens, que présentent les conditions externes, ainsi que les circonstances psychologiques sur les manifestations cliniques des maladies infectieuses. D'autre part, ces principes découlaient de l'identification des phénomènes de l'immunité avec les processus de digestion (digestion intra- et extracellulaire).

En l'absence d'expériences directes qui pourraient la confirmer, cette idée ne présenterait pas de valeur si, au cours de

la même année, elle n'avait été confirmée d'une manière éclatante par les expériences de Métalnikoff, faites à l'Institut Pasteur de Paris. Ce savant parvint à trouver une réaction spécifique à une irritation par l'antigène qui pouvait être obtenue par une irritation conditionnelle (chauffage de l'abdomen ou grattement de l'oreille du cobaye). Ses expériences furent répétées avec le même succès par Wygodlichikoff et Barykina. Ceux-ci, il est vrai, n'en tirèrent aucune déduction. Elles furent répétées aussi par Antinescu-Dimitriu (1929), par Ostrowskaja et par d'autres chercheurs. En 1929, Schambouroff confirma la théorie de la participation du système nerveux aux phénomènes d'immunité par des expériences d'immunisation de la chambre antérieure de l'œil chez les lapins. Métalnikoff fut ainsi le premier qui, par des expériences exactes, démontra la participation du système nerveux aux phénomènes de l'immunité.

Dans notre travail, en dehors d'expériences répétées sur la production d'un réflexe conditionnel pendant l'immunité, nous nous sommes proposé d'obtenir l'inhibition d'un réflexe déjà élaboré.

**IRRITATION CONDITIONNELLE.** — Dans cette série d'expériences, faites sur des lapins, nous nous sommes servis du plan de Métalnikoff. Comme facteur d'irritation conditionnelle, nous avons essayé le grattement de l'oreille et du dos, et le bruit de la sonnette. Le facteur d'irritation conditionnelle agissait pendant une minute, après quoi, immédiatement (à un intervalle de deux à cinq secondes), on injectait dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube de vaccin anticholérique. Les mêmes procédés étaient appliqués chaque jour pendant quinze à vingt jours. Enfin, au bout de huit à douze jours, les animaux subissaient l'action de l'irritation conditionnelle seule, cinq à six fois, à des intervalles de dix à trente minutes. Comme indice de la réaction immunologique, nous choisîmes la leucocytose du sang. L'évaluation du nombre des leucocytes se faisait à des termes variés (déterminés par des expériences préalables) après la dernière action de l'irritation. En tout, nous fîmes 13 expériences sur 11 lapins. Dans ces 13 cas, nous eûmes dix fois un résultat positif; trois fois le résultat fut négatif (chez 2 lapins). Voir le tableau I.

TABLEAU I. — Irritation conditionnelle,  
bruit de la sonnette pendant quinze secondes.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	6 heures après	24 heures après
N° 74. Lapin d'expérience. . .	10.200	24.200	15.200	20.100	21.200
N° 76. Lapin d'expérience. . .	7.500	8.800	10.000	7.200	8.800
N° 75. Contrôle . . . . .	8.600	7.000	6.800	6.000	7.800

Cette expérience prise comme exemple fut répétée avec des résultats analogues sur d'autres lapins. Deux de ces derniers, comme nous l'avons dit, ont donné un résultat négatif (tableau II).

TABLEAU II. — Irritation conditionnelle,  
grattement de l'oreille pendant une minute.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	6 heures après	24 heures après
N° 71. Lapin d'expérience. . .	6.800	7.200	5.400	6.600	8.200
N° 72. Lapin d'expérience. . .	7.800	8.600	16.800	14.600	12.200
N° 73. Contrôle . . . . .	13.600	14.000	11.600	5.000	3.000

Le lapin 71 ne présenta pas d'augmentation du nombre des leucocytes; le jour suivant seulement on pouvait observer une faible élévation de leur nombre. Quelques jours après, nous avons répété cette expérience avec le même lot de lapins; le résultat fut identique (tableau III).

Dans cette modification de l'expérience, le lapin 71 présenta de nouveau une légère augmentation du nombre des globules blancs avec un grand retard. La cause de ce phénomène fut éclaircie par l'étude de la réaction leucocytaire chez les lapins à la suite d'une injection de vaccin anticholérique. Dans le but de déterminer le moment où la leucocytose se trouve à son maximum, on examinait le sang pendant la



TABLEAU III.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	5 heures après	24 heures après
N° 73. Lapin d'expérience. . .	6.200	10.000	12.400	8.200	7.000
N° 71. Lapin d'expérience. . .	5.200	7.800	7.000	9.400	9.400
N° 72. Contrôle. . . . .	10.000	12.200	8.400	7.200	5.200

période de l'action de l'irritation conditionnelle avec injection de vaccin.

Cette expérience préliminaire nous montre que la réaction leucocytaire envers une injection de vaccin se passe chez divers lapins d'une manière différente. Quelques lapins donnent une faible réaction apparaissant avec retard (71). Les

TABLEAU IV.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'administration de vaccin	1 heure après	2 heures après	3 heures après	4 heures après
N° 71 . . . . .	7.000	6.000	6.000	8.000	9.600
N° 72 . . . . .	5.800	7.400	12.000		11.000
N° 73 . . . . .	6.200	15.000		11.000	9.200

autres donnent une réaction intense à début précoce (73). Le même caractère de la réaction est conservé quand on applique uniquement l'irritation conditionnelle (tableaux II et III).

Dans des cas particuliers, nous avons observé aussi une faible augmentation du nombre des leucocytes chez les lapins de contrôle (tableau III). Une augmentation de 1000-1500 était considérée comme ne présentant pas de valeur, tenant compte des oscillations physiologiques et des fautes de l'expérience.

Des résultats conformes furent obtenus dans une expérience faite sur des lapins où l'irritation conditionnelle était représentée par le grattement de l'oreille. Il se peut que le lavage

de l'oreille et la piqûre qu'on pratiquait pendant la saignée qui précédait l'expérience fussent aussi des facteurs d'irritation conditionnelle provoquant une légère augmentation du nombre des globules blancs. Dans les expériences où l'agent de l'irritation était le bruit de la sonnette, nous n'avons pas eu ces résultats.

Les faits que nous venons d'exposer confirment le principe fondamental de l'idée sur la nature de l'immunité considérée comme un réflexe, pour ainsi dire l'idée d'une action directrice exercée par le système nerveux sur l'immunité. A une irritation conditionnelle, l'organisme réagit tout à fait comme à une inoculation infectante (infection). En même temps, nous eûmes la possibilité de constater que le comportement de l'animal reste sans changement dans le cas où il est soumis à une injection de l'antigène ou s'il est exposé à l'unique action de l'irritation conditionnelle. Si à l'action de l'antigène l'animal réagit d'une manière lente et si la réaction survient avec un retard, nous observons absolument les mêmes conditions dans le cas de l'unique action de l'irritation conditionnelle et inversement (voir les lapins 71, 72 et 73).

INHIBITION CONDITIONNELLE. — Il était tout naturel de supposer que si, dans l'immunité, il était possible d'élaborer un réflexe conditionnel à action stimulante, l'élaboration d'un réflexe conditionnel d'inhibition serait très probable. Dans les séries d'expériences qui vont être exposées, nous nous sommes proposé de le démontrer.

Nous avons prévu toutes les difficultés qui pouvaient surgir dans ces expériences en raison des oscillations de la leucocytose sous l'influence de facteurs physiologiques internes, dont il est difficile de tenir compte ; un enregistrement précis de la fonction du système nerveux comme celui qu'on applique dans l'expérience avec les glandes salivaires y serait impossible. Ainsi dans ces expériences comme dans celle dont nous venons de faire part, nous ne tenons pas compte des oscillations du nombre des cellules allant de 4.000 à 4.500.

L'expérience était faite de la manière suivante :

Un lot de lapins était préparé comme dans les expériences précédentes. Au bout du même laps de temps, un des lapins était soumis à l'action

d'une irritation conditionnelle. Simultanément (ou deux à cinq secondes après) un autre lapin était exposé à une autre irritation. Ensuite, dans le même temps, on recherchait la leucocytose. Dans plusieurs séries, trois ou quatre jours avant l'expérience d'inhibition, les lapins étaient soumis à l'action de l'irritation conditionnelle suivie de l'injection de vaccin. Les nouveaux facteurs d'irritation dont nous nous servîmes étaient l'odeur du camphre et de l'ammoniaque ou bien les pattes du lapin étaient irritées par un courant faradique. Simultanément un lapin de contrôle, qui n'avait pas subi l'irritation conditionnelle, ni aucune autre irritation et qui, pendant l'expérience, se trouvait dans un autre endroit était soumis à l'épreuve.

En tout, nous fîmes cinq expériences avec 6 lapins sans compter les témoins. Ces derniers ayant donné des résultats négatifs ne figurent pas dans nos tableaux. Dans la plupart des expériences, surtout dans les cas où le nouveau facteur d'irritation (facteur d'inhibition) était représenté par des substances à très forte odeur, nous avons des résultats positifs très nets (voir le tableau V).

TABLEAU V.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	5 heures après	24 heures après
N° 40. Grattement du dos. .	8.300	9.950	13.900	11.200	6.600
N° 46. Grattement du dos + odeur d'ammoniaque . .	7.100	9.100	7.200	9.000	7.800

Dans cette expérience, la différence entre la leucocytose avant et après l'expérience est si évidente que nous pouvons envisager nos résultats comme positifs.

Sept jours après, les mêmes lapins subirent, pendant six jours, l'action de l'irritation renforcée et, cinq jours encore, l'expérience fut répétée. Dans ce cas cependant, l'expérience fut disposée dans un autre ordre : le lapin 46 subit l'irritation conditionnelle, chez le lapin 40 à cette irritation on en ajouta une autre — irritation des pattes de derrière par un courant faradique (tableau VI).

Nous considérons cette expérience comme imparfaite, vu que le sang des animaux ne fut pas étudié avant l'expérience. En outre, nous fûmes obligés de l'exécuter dans un autre local où se mêlait le bruit de divers procédés de traitement pratiqués

TABLEAU VI.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	5 heures après	24 heures après
N° 46. Grattement du dos.	Pas étudiée.	9.400	12.000	9.000	13.900
N° 40. Grattement du dos + courant faradique . .	Pas étudiée.	12.200	11.900	11.850	13.600

sur des malades. Cependant, même dans cet essai, nous pouvons noter une certaine différence entre la réaction leucocytaire chez le lapin qui a subi l'action de l'inhibition conditionnelle et la réaction du témoin.

Quatre jours après, le même lot de lapins subit six fois (pendant six jours) l'action de l'irritation renforcée par une inoculation de vaccin et, neuf jours plus tard, l'expérience fut répétée. L'action de l'inhibition conditionnelle fut appliquée au même lapin 40, mais l'animal avec lequel il faisait paire et qui avait subi seulement l'irritation conditionnelle était un nouveau lapin 4. Ce lapin, dans les expériences précédentes, servait de contrôle et donnait toujours des résultats négatifs. Le facteur de l'irritation d'inhibition était l'odeur de camphre (tableau VII).

TABLEAU VII.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	5 heures après	24 heures après
N° 41. Grattement du dos.	15.700	23.000	18.700	19.700	14.200
N° 40. Grattement du dos + odeur de camphre . .	11.700	10.800	11.200	12.400	10.800

Cette expérience, où fut appliqué un nouveau facteur d'irritation, nous donna des résultats nettement positifs, plus démonstratifs que ceux des expériences précédentes (tableau V et VI). Le tableau VIII donne les résultats obtenus dans un autre lot de lapins.



TABLEAU VIII. — Irritation conditionnelle, grattement du dos, Inhibition conditionnelle, odeur de camphre.

LAPINS	LEUCOCYTOSE				
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	6 heures après	24 heures après
N° 64. Grattement du dos	10.630	10.000	13.000		11.450
N° 69. Grattement du dos + odeur de camphre . .	7.750	5.900	7.000		7.320

Trois jours après, les lapins reçurent une irritation conditionnelle répétée deux fois et, au bout d'une semaine, l'expérience fut répétée. Dans cette expérience ce fut le lapin 61 qui reçut l'irritation d'inhibition. Un nouveau lapin faisait paire avec lui. Comme facteur d'inhibition, on se servit de l'odeur d'ammoniaque. Ici encore le résultat fut positif.

TABLEAU IX.

LAPINS	LEUCOCYTOSE			
	Avant l'expérience	1 heure après	3 heures après	6 heures après
N° 64. Grattement du dos.	9.900	16.200	9.500	9.400
N° 61. Grattement du dos + odeur d'ammoniaque.	15.000	11.400	11.450	10.400

Ainsi, par les expériences qui viennent d'être exposées, nous parvenons à démontrer pour la première fois la possibilité d'une inhibition conditionnelle dans l'immunité. Le fait de la disparition d'une réaction spécifique sous l'influence d'un nouveau facteur d'irritation nous paraît avoir une grande importance théorique et pratique. Dans nos expériences, c'est un facteur externe qui est intervenu, mais nous pensons que les facteurs internes pourraient agir aussi d'une manière analogue.

## CONCLUSION.

Les réflexes conditionnels (réaction spécifique envers une irritation conditionnelle), obtenus par Métalnikoff dans l'immunité, ainsi que l'élaboration d'un réflexe d'inhibition dans l'immunité (disparition d'une réaction spécifique sous l'influence de nouvelles irritations), que nous sommes parvenus à obtenir, nous semblent confirmer d'une manière suffisante le rôle du système nerveux dans les processus d'immunité, c'est-à-dire des processus dont résulte l'immunité. En même temps, ils donnent à l'immunité une autre interprétation.

L'étude du sang et des autres humeurs de l'organisme, des éléments cellulaires qu'elles contiennent et de leurs propriétés physico-chimiques n'est pas parvenue à élucider d'une manière plus ou moins nette la nature de l'immunité.

L'histoire de nos connaissances sur l'immunité contient diverses théories — théorie cellulaire, humorale, théories mixtes, théories physiologiques, physico-chimiques. Ces derniers temps, on a admis l'existence d'une propriété autonome de la cellule — la propriété d'élaborer son immunité. Pour les organismes unicellulaires, cette propriété est confirmée par Métalnikoff. Les nouveaux faits, comme l'irritation conditionnelle, ainsi que l'inhibition conditionnelle, ne peuvent être rejetés du domaine de l'étude de l'immunité. A ce point de vue il est difficile d'admettre qu'une cellule se trouvant dans le sang ou les humeurs de l'organisme puisse acquérir ou perdre ses propriétés spécifiques sous l'influence de facteurs externes, tels que le grattement du dos de l'animal, le bruit d'une sonnette ou l'odeur de camphre. Ces phénomènes cependant seraient faciles à comprendre, si on supposait que les propriétés spécifiques des cellules, qui circulent dans le sang et les autres humeurs, ainsi que les propriétés du sérum sont fonction d'un tissu ou d'un système particulier dont le fonctionnement serait dirigé par le système nerveux. Une cellule détachée de ce tissu ou système et entrant dans le sang ou dans une autre humeur est douée déjà d'une fonction spéciale. Le changement spécifique du sang résulte de même

du fonctionnement de ce tissu ou système, peut-être de sa sécrétion.

La participation du système nerveux au fonctionnement de ce système, interprétée d'après les faits obtenus par Métalnikoff et par nous, caractérise ce fonctionnement comme un réflexe. Ainsi, pour que cette action ait lieu, l'intervention d'une irritation est nécessaire : la transmission de l'irritation des récepteurs aux effecteurs est une action de réponse. Cette action de réponse se présenterait alors comme un processus d'infection ou pathologique (inapparent ou déclaré). Elle se caractériserait toujours par son extension et intéresserait tout le système (processus général, sensibilisation de tout le système). L'effet maximum se manifeste cependant au point de l'application du facteur d'irritation (processus local, immunité locale). Au début de l'irritation, l'action de réponse ne présenterait pas encore un caractère nettement spécifique et le type des réactions ne serait pas très différent au cours de diverses irritations. La différence qu'on observe est déterminée, dans ces cas, par des propriétés innées de l'animal d'une espèce donnée, par des habitudes acquises dans la phylogénèse. Sous l'effet d'une action prolongée du même facteur d'irritation, le système parvient à acquérir une nouvelle habitude, une réaction spécifique, une immunité, un réflexe nouveau.

L'arc nerveux primitif (périphérique), par la voie duquel se font les réflexes chez les animaux de haute organisation et chez l'homme, se trouve sous l'influence des ganglions sous-corticaux et de l'écorce cérébrale. Ce fait conditionne la complexité et la diversité qu'on observe au cours des réflexes d'immunité — du point de vue de la phylogénèse — ou des réflexes spécifiques nouvellement acquis.

La conception des processus infectieux et de l'immunité, envisagés comme des actions réflexes, doit modifier nos idées sur le mécanisme d'action des agents thérapeutiques employés contre ces processus ; elle conduit à introduire de nouveaux facteurs dans la thérapeutique des diverses maladies.

# ANALYSE DES RÉCEPTEURS DU VIBRION CHOLÉRIQUE

par R. TH. SCHOLTENS

(*Institut de la Santé publique de l'État, Utrecht.*  
Directeur W. A. TIMMERMAN.)

## A. — Déviation de l'alexine.

Dans des travaux antérieurs [1, 2, 3, 4], j'ai démontré que le vibron cholérique possède parfois deux récepteurs thermostables, A' et B'. Un sérum préparé avec une telle souche contient deux agglutinines A et B.

La plupart des souches ne possèdent que le récepteur A'. Dans un sérum contenant les deux agglutinines A et B, les souches qui ne possèdent que le récepteur A' ne sont agglutinées que par l'agglutinine A, tandis que les souches possédant les récepteurs A' et B' sont aussi agglutinées par l'agglutinine B et par conséquent jusqu'à un titre plus élevé. La différence du titre dépend de la quantité d'agglutinine B dans le sérum. Si celle-ci est grande la différence est très marquée, si celle-ci est petite la différence est faible.

Je me suis demandé si le récepteur B' et son anticorps B jouent aussi un rôle dans les réactions de déviation de l'alexine?

Pour répondre à cette question, j'ai examiné plusieurs sérums, les uns ne contenant que l'agglutinine A, les autres contenant les agglutinines A et B, quant à leur richesse en ambocepteurs, avec des antigènes préparés avec des souches contenant le récepteur A' ou les récepteurs A' et B'.

## TECHNIQUE DES ÉLÉMENTS UTILISÉS.

*Antigènes.* — Les antigènes furent préparés en émulsionnant une culture sur gélose inclinée dans 50 cent. cubes d'eau physiologique. Leurs pouvoirs anticomplémentaires furent comparés et égalisés à peu près en diluant les



antigènes dont le pouvoir anticomplémentaire excédait celui des autres, de sorte qu'il était possible de les utiliser avec le même système hémolytique. Les souches Ch. 44, Ch. 43, T. H. F. et R. A. K. qui ne contenaient que l'antigène A' et les souches Ch. 130, Ch. 47, El Tor 6 et El Tor 47 qui contenaient aussi l'antigène B' furent utilisées. Dans les expériences où des souches hémolytiques furent utilisées les antigènes ont été chauffés à 56° pendant deux heures.

*Sérums.* — Sérums de lapin agglutinant le vibrion cholérique, en dilutions croissantes.

*Alexine.* — Sérum de cobaye dilué au 1/12.

*Sérum hémolytique et globules rouges de mouton* à 2 1/2 p. 100.

0 c. c. 5 de chaque élément fut utilisé.

L'hémolyse fut titré. Une quantité fut choisie qui donnait une hémolyse complète avec 0 c. c. 4 d'alexine en présence de l'antigène et une hémolyse presque complète avec 0 c. c. 25 d'alexine dans les mêmes conditions (voir les contrôles du pouvoir anticomplémentaire des antigènes dans le tableau I).

Dans chaque expérience, deux sérums, l'un contenant les agglutinines A et B, l'autre ne contenant que l'agglutinine A, furent comparés quant à leur richesse en ambocepteurs, avec tous les antigènes.

Les résultats de ces expériences sont donnés dans le tableau I.

Avec le sérum Ch. 130, qui contient les agglutinines A et B, les antigènes Ch. 130 et Ch. 47 (ayant les récepteurs A' et B') fixent beaucoup mieux l'alexine que les antigènes T. H. F., R. A. K. et Ch. 43 (ayant le récepteur A'). Avec le sérum R. A. K. qui ne contient que l'agglutinine A, c'est le contraire.

En acceptant l'existence d'un seul ambocepteur identique dans les deux sérums, ce fait est inexplicable. On s'attendait à des résultats proportionnels.

Tout s'explique facilement quand on accepte la présence d'un ambocepteur B dans le sérum Ch. 130, analogue à l'agglutinine B. Les antigènes Ch. 47 et Ch. 130 fixent l'alexine beaucoup mieux avec le sérum Ch. 130, parce qu'ils le fixent aussi au moyen du récepteur B' et de l'ambocepteur correspondant B. Ce dernier anticorps fait défaut dans le sérum R. A. K.; aussi les souches Ch. 130 et Ch. 47 n'ont pas d'antigène supérieur à celui des souches 43 et T. H. F. avec le même sérum; au contraire leur antigène semble être inférieur.

Des résultats analogues et même parfois plus accusés furent obtenus avec d'autres sérums. Les sérums Ch. 47, El Tor 47,

TABLEAU I. — Comparaison de la richesse en anticorps des sérums Ch. 130 (A et B) et R. A. K. (A) par titrage avec des antigènes identiques et un système hémolytique identique.

a) Titrage du sérum Ch. 130 (A + B).

SOUCHES utilisées pour la préparation des antigènes	ANTIGÈNES des souches utilisées	DILUTIONS DU SÉRUM CH. 130							
		1/300	1.400	1/600	1/800	1.1.200	1/1.600	1/3.200	1/4.800
Ch. 47 . .	A' et B'	—	—	—	—	—	—	—	—
Ch. 130 . .	A' et B'	—	—	—	—	±	±±	+++	+++
T. H. F. . .	A'	—	—	+	±±	++	+++	+++	+++
R. A. K. . .	A'	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ch. 43 . .	A'	—	±	±	±±	+++	+++	+++	+++

b) Titrage du sérum R. A. K. (A).

SOUCHES utilisées pour la préparation des antigènes	ANTIGÈNES  des souches  utilisées	DILUTIONS DU SÉRUM R. A. K.							
		1/200	1/300	1/400 <sup>a</sup>	1/600	1/800	1/1.200	1/1.600	1/2.400
Ch. 47. . .	A' et B'	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
Ch. 130. . .	A' et B'	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
T. H. F. . .	A'	—	—	—	—	—	+	++	+++
R. A. K. . .	A'	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
Ch. 43. . .	A'	—	—	—	—	—	±±	±±	+++

CONTROLE DE L'ACTION anticoimplémentaire des antigènes				CONTROLE DE L'ACTION anticoimplémentaire des sérums				
Antigènes	Quantités d'alexine			Sérums dilués 50 ×	Quantités d'alexine			
	0 c. c. 25	0 c. c. 4	0 c. c. 5		0 c. c. 1	0 c. c. 2	0 c. c. 3	0 c. c. 4
Ch. 47. . .	—	+++	+++	Ch. 130 . . . R. A. K. . . . Sans sérum.	—	+++	+++	+++
Ch. 130. . .	±	+++	+++		±	+++	+++	+++
T. H. F. . .	+++	+++	+++		±	+++	+++	+++
R. A. K. . .	±±	+++	+++					
Ch. 43. . .	+++	+++	+++					

El Tor 6 et deux autres sérums Ch. 130 se comportaient comme le sérum 130 du tableau I. Ils contenaient les agglutinines A et B. Les sérums Ch. 44, Ch. 43 et T. H. F. se comportaient comme le sérum R. A. K. Il ne contenaient que l'agglutinine A.

Or il n'y a pas de doute que le récepteur B' joue un rôle dans les réactions de déviation de l'alexine.

Ce rôle peut être très important et même dépasser celui de l'ambocepteur A et le récepteur A'.

Dans l'expérience du tableau II les antigènes Ch. 47 et El

TABLEAU II. — **Sérum Ch. 47**, possédant un titre très peu élevé des anticorps A, et un titre assez élevé des anticorps B titré avec les antigènes indiqués.

SOUCHES utilisées pour la préparation des antigènes	ANTIGÈNES des souches utilisées	DILUTIONS DU SÉRUM CH 47 (AMBOCEPTEURS A' ET B')							
		1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/800	1/1.600
a) <i>Sérum Ch. 47 (ambocepteurs A et B) titré avec les antigènes indiqués.</i>									
El Tor 6. . .	A' et B'	—	—	—	—	—	++	+++	+++
Ch. 47. . .	A' et B'	—	—	—	—	—	—	+	+++
Ch. T. H. F. . .	A'	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R. A. K. . .	A'	±	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
SOUCHES utilisées pour la préparation des antigènes	ANTIGÈNES des souches utilisées	DILUTIONS DU SÉRUM T. H. F. (AMBOCEPTEURS A')							
		1/100	1/200	1/400	1/600	1 800	1 1.200	1 1.600	
b) <i>Sérum T. H. F. (ambocepteur A seulement) titré avec les mêmes antigènes.</i>									
El Tor 6. . .	A' et B'	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
Ch. 47. . .	A' et B'	—	—	++	++	+++	+++	+++	+++
T. H. F. . .	A'	—	—	—	—	—	++	+++	+++
R. A. K. . .	A'	—	—	—	—	±	+	+++	+++
CONTROLE DE L'ACTION anticoimplémentaire des sérums				CONTROLE DE L'ACTION anticoimplémentaire des sérums					
Antigène	Quantités d'alexine			Sérums	Qu ntités d'alexine				
	0 c. c. 25	0 c. c. 4	0 c c. 5		0 c. c. 1	0 c. c. 2	0 c. c. 3		
El Tor 6. . .	++±	++±	+++	Sérum T. H. F. Sérum Ch. 47 Sans sérum .	++±	+++	+++		
Ch. 47. . .	++±	+++	+++		++±	+++	+++		
T. H. F. . .	++±	+++	+++		++±	+++	+++		
R. A. K. . .	+++	+++	+++		++±	+++	+++		
+++ = hémolyse complète — = déviation complète.									

Tor 6 dévient l'alexine presque exclusivement au moyen de l'ambocepteur B. Les souches ne possédant que le récepteur A ne fixent presque pas l'alexine avec le même sérum, le titre de l'ambocepteur A étant trop faible.

Je donne encore le résultat d'un titrage des agglutinines des sérums utilisés dans le tableau III. On voit qu'il y a aussi parallélisme entre les résultats du point de vue quantitatif.

TABLEAU III.

SÉRUMS	AGGLUTININES présent dans le sérum	DILUTIONS DES SÉRUMS							
		1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200	1/6.400	1/12.800
<i>Sérums Ch. 47, Ch. 130, R.A.K., et T.H.F. titré avec la souche Ch. 130, qui contient les récepteurs A' et B'.</i>									
Ch. 47.	A et B.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
Ch. 130.	A et B.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
R.A.K.	A	+++	+++	+++	+++	+++	±	—	—
T.H.F.	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
<i>Les mêmes sérums titrés avec la souche R.A.K. qui ne contient que le récepteur A'.</i>									
Ch. 47.	A et B	+++	+++	±	—	—	—	—	—
Ch. 130.	A et B	+++	+++	+++	+++	+++	++	Trace.	—
R.A.K.	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
T.H.F.	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±

### B. — Expériences d'absorption quantitatives.

On sait depuis les travaux d'Andrewes que, dans le cas du bacille dysentérique, la présence d'un deuxième récepteur exerce parfois une action sur l'autre. Le pouvoir absorbant de celui-ci est diminué.

Est-ce aussi le cas pour les récepteurs A' et B' du vibron cholérique ?

Le pouvoir absorbant des souches T. H. F., R. A. K., Ch. 43 et Ch. 44 ne possédant que le récepteur A' et celui des souches Ch. 130, El Tor 6 et Ch. 47 qui possèdent les récepteurs A' et B' furent comparés.

Une culture sur gélose inclinée de chaque souche fut mise en suspension dans 2 cent. cubes d'eau physiologique. La densité de ces suspensions



fut comparée dans des tubes à agglutination en les diluant cinquante fois de sorte qu'elles étaient plus transparentes. Une différence de 10 p. 100 était très bien décelée de cette manière, de sorte qu'il était possible d'égaliser leur densité approximativement. Ces suspensions furent ajoutées en parties égales à un sérum T. H. F. agglutinant 1/12.800, et ne contenant que l'agglutinine A. Après un séjour d'une heure à l'étuve les suspensions furent centrifugées et le liquide surnageant fut titré avec la souche T. H. F. Le résultat est donné dans le tableau IV.

TABLEAU IV. — Sérum T.H.F. titré avec la souche T.H.F. avant toute absorption et après absorption avec les suspensions indiquées dans le tableau, préparé avec des souches ne possédant que le récepteur A' ou avec des souches contenant les récepteurs A' et B'.

a) Sérum T.H.F. titré avec la souche T.H.F. avant toute absorption :

DILUTIONS DU SÉRUM T. H. F						
1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200	1/6.400	1/12.800
+++	+++	+++	+++	+++	+++	++±

b) Sérum T.H.F. titré avec T.H.F. après absorption  
avec les suspensions indiquées.

SOUCHES avec lesquelles les suspensions furent préparées	ANTIGÈNES des souches	DILUTIONS DU SÉRUM						
		1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200	1/6.400	1/12.800
Ch. 130 . . . . .	A' et B'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ch. 47 . . . . .	A' et B'	+++	+++	+++	+++	+++	++±	—
El Tor 6 . . . . .	A' et B'	+++	+++	+++	+++	+++	++±	—
Ch. 47. . . . .	A' et B'	+++	+++	+++	+++	+++	++±	—
Ch. 43. . . . .	A'	+++	+++	+	—	—	—	—
T. H. F. . . . .	A'	+++	+++	+	—	—	—	—
T. H. F., dilué à 80 p. 100.		+++	+++	++±	—	—	—	—
T. H. F., dilué à 65 p. 100.		+++	+++	++±	—	—	—	—
T. H. F., dilué à 50 p. 100.		+++	+++	+++	—	—	—	—
R. A. K. . . . .	A'	+++	+++	+++	—	—	—	—
R. A. K., dilué à 80 p. 100.		+++	+++	+++	++±	—	—	—
R. A. K., dilué à 65 p. 100.		+++	+++	+++	++±	—	—	—
R. A. K., dilué à 40 p. 100.		+++	+++	+++	+++	Trace.	—	—

On voit que les souches qui ne possèdent qu'un seul récepteur absorbent une partie des agglutinines nettement plus grande que les souches ayant les récepteurs A' et B'. Des résultats analogues furent obtenus avec les sérums Ch. 44 et Ch. 43. On ne peut pas expliquer les résultats obtenus par des différences de densité, parce que l'agglutinine A était aussi beaucoup mieux absorbée par des suspensions diluées des souches

T. H. F., etc., ne contenant que 80 p. 100, ou moins, des germes contenus dans la suspension primitive, comme il est indiqué dans le tableau.

### Conclusions.

I. L'antigène B' et son anticorps B jouent aussi un rôle dans les réactions de fixation de l'alexine.

II. Les souches possédant deux récepteurs absorbent moins bien l'agglutinine A que les souches qui ne possèdent que le récepteur A'. Le deuxième récepteur exerce une action sur l'autre.

III. L'affinité diminuée des souches ayant les récepteurs A' et B' pour les anticorps A, indique qu'il est désirable d'associer les deux types de vibrions cholériques dans les vaccins anti-cholériques; un individu vacciné seulement avec l'antigène A est peut-être moins bien protégé contre les souches ayant les récepteurs A' et B' qu'un individu vacciné avec les deux antigènes.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. Th. SCHOLTENS, *Thèse Leiden*, 1933.
- [2] R. Th. SCHOLTENS, *C. R. Soc. de Biologie*, 21 octobre 1933, **114**, p. 420.
- [3] R. Th. SCHOLTENS, *Acta Leidensia*, 9.
- [4] R. Th. SCHOLTENS, *Ces Annales*, **56**, n° 1, 1936.

## LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1935

par JULES VIALA.

Ce rapport, établi suivant le plan fixé par la Conférence internationale de la Rage, ne concerne que l'année 1935.

### 1° *Personnes traitées :*

510 personnes ont été admises à suivre le traitement antirabique.

### 2° *Méthode de traitement :*

Depuis 1911, l'Institut Pasteur a adopté la méthode de conservation en glycérine (1) des moelles atténuées, introduite dans la pratique par A. Calmette.

On se sert de pots-bans d'une contenance de 50 cent. cubes.

Dans chacun, on verse 25 cent. cubes de glycérine neutre à 30° B°.

On stérilise à 120°, pendant vingt minutes.

On laisse refroidir et on introduit dans chaque pot-ban quelques fragments de moelles préalablement desséchées dans un flacon de potasse, d'après la méthode initiale de Pasteur.

On conserve ces pots-bans à la glacière aux environs de + 2°.

Pour la vaccination des personnes mordues, on n'utilise que des moelles ayant séjourné moins de *quinze jours en glycérine*, l'expérience ayant démontré que le degré d'atténuation de chaque moelle n'est pas sensiblement modifié pendant les quinze premiers jours.

Les personnes mordues reçoivent journellement, pendant la durée du traitement, qui varie de quinze à vingt-cinq jours, 3 à 4 millimètres de moelle triturée dans 3 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée.

(1) Ces *Annales*, 1, 1887, p. 87.

\*  
\* \*

Le virus fixe de passage actuellement utilisé est le même que celui dont on s'est toujours servi depuis la création du service de vaccinations antirabiques, d'abord rue d'Ulm, et ensuite (à partir de 1888) à l'Institut Pasteur.

Pour éviter l'infection de la moelle, on saigne les lapins dès que la paralysie des trains postérieur et antérieur est complète et on extrait immédiatement celle-ci par la méthode d'Oshida, au moyen d'un mandrin métallique nickelé, stérile.

Il convient de signaler que, depuis le 19 août 1911, les inoculations de passage du virus fixe sont toujours effectuées, non plus avec le bulbe frais de lapin rabique, mais avec le bulbe conservé depuis au moins quarante-huit heures en glycérine à la glacière.

Depuis que cette technique a été adoptée, nous n'avons jamais constaté de modifications dans les délais d'incubation de la maladie après inoculation sous la dure-mère.

\*  
\* \*

Voici le tableau des injections antirabiques :

1 <sup>er</sup> jour . . . . .	Moelle de 4 jours (3 cent. cubes).
2 <sup>e</sup> — . . . . .	— 4 — —
3 <sup>e</sup> — . . . . .	— 4 — —
4 <sup>e</sup> — . . . . .	— 4 — —
5 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
6 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
7 <sup>e</sup> — . . . . .	— 4 — —
8 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
9 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
10 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
11 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
12 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
13 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
14 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
15 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
16 <sup>e</sup> jour . . . . .	Moelle de 3 jours (3 cent. cubes).
17 <sup>e</sup> — . . . . .	— 3 — —
18 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —



19 <sup>e</sup> jour . . . . .	Moelle de 3 jours (3 cent. cubes).
20 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
21 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
22 <sup>e</sup> jour . . . . .	Moelle de 2 jours (3 cent. cubes).
23 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
24 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —
25 <sup>e</sup> — . . . . .	— 2 — —

3° Répartition des personnes traitées, d'après le territoire sur lequel elles ont été mordues :

France. . . . .	501
Maroc . . . . .	1
Suisse . . . . .	2
Tunisie . . . . .	7

4° D'après l'espèce de l'animal mordeur :

Chiens de propriétaires connus . . . . .	207
Chiens errants . . . . .	134
Chats de propriétaires connus . . . . .	90
Chats errants . . . . .	42
Bovidés . . . . .	7
Rats . . . . .	24
Autres animaux . . . . .	6

5° D'après les preuves de rage chez l'animal mordeur :

*Catégorie A.* — La rage de l'animal mordeur a été constatée par le développement de la maladie chez des animaux inoculés avec son bulbe ou par un examen histologique (1).

*Catégorie B.* — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

*Catégorie C.* — L'animal mordeur est suspect de rage.

Pour un certain nombre de cas de cette catégorie, vu les renseignements fournis par les personnes mordues, la rage était cliniquement presque certaine.

Catégorie A . . . . .	18
Catégorie B . . . . .	42
Catégorie C . . . . .	450

(1) Les centres nerveux des animaux mordeurs sont aussi examinés au Laboratoire national des Recherches vétérinaires d'Alfort, et les résultats sont transmis au service.

6° *D'après le caractère des morsures :*

Profondes . . . . .	416
Superficielles . . . . .	94

7° *Interposition des vêtements :*

Sur la peau nue . . . . .	370
A travers le vêtement . . . . .	140

8° *D'après le siège de la morsure (1) :*

Tête . . . . .	34
Membres supérieurs . . . . .	353
Tronc . . . . .	2
Membres inférieurs . . . . .	121

9° *D'après le nombre de jours écoulés entre la morsure et le traitement :*

0 à 4 jours . . . . .	278
5 à 7 jours . . . . .	96
8 à 14 jours . . . . .	97
15 à 21 jours . . . . .	28
Plus de 21 jours . . . . .	11

10° *Autres renseignements :***Répartition par départements des 501 personnes traitées mordues en France.**

Ain . . . . .	1	Indre . . . . .	1
Aisne . . . . .	3	Indre-et-Loire . . . . .	4
Allier . . . . .	1	Jura . . . . .	1
Alpes-Maritimes . . . . .	1	Landes . . . . .	1
Ardennes . . . . .	6	Loir-et-Cher . . . . .	4
Aveyron . . . . .	2	Loire-Inférieure . . . . .	6
Calvados . . . . .	2	Loiret . . . . .	4
Cantal . . . . .	1	Lot . . . . .	3
Cher . . . . .	2	Lot-et-Garonne . . . . .	1
Corrèze . . . . .	3	Maine-et-Loire . . . . .	4
Côte d'Or . . . . .	2	Manche . . . . .	4
Côtes-du-Nord . . . . .	14	Marne . . . . .	2
Creuse . . . . .	4	Mayenne . . . . .	2
Doubs . . . . .	1	Meuse . . . . .	1
Eure . . . . .	3	Morbihan . . . . .	5
Eure-et-Loir . . . . .	2	Moselle . . . . .	2
Finistère . . . . .	4	Nièvre . . . . .	4
Garonne (Haute-) . . . . .	2	Nord . . . . .	1
Gers . . . . .	1	Oise . . . . .	4
Ille-et-Vilaine . . . . .	30	Orne . . . . .	7

(1) Pour les morsures multiples on indique uniquement le siège de la plus dangereuse.

Puy-de-Dôme. . . . .	6	Seine-Inférieure . . . . .	18
Saône . . . . .	2	Somme. . . . .	2
Sarthe . . . . .	4	Tarn-et-Garonne . . . . .	1
Seine { Paris . . . . .	141	Vienne . . . . .	1
{ Banlieue . . . . .	81	Vienne (Haute-). . . . .	3
Seine-et-Marne . . . . .	17	Yonne . . . . .	10
Seine-et-Oise. . . . .	69		

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine.

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1911	341	1	0,29
1887	1.770	14	0,79	1912	395	0	0,00
1888	1.622	9	0,55	1913	330	0	0,00
1889	1.830	7	0,38	1914	373	0	0,00
1890	1.540	5	0,32	1915	654	1	0,15
1891	1.559	4	0,25	1916	1.388	3	0,21
1892	1.790	4	0,22	1917	1.543	4	0,26
1893	1.648	6	0,36	1918	1.803	3	0,16
1894	1.387	7	0,50	1919	1.813	3	0,16
1895	1.520	5	0,38	1920	1.126	6	0,53
1896	1.308	4	0,30	1921	998	1	0,10
1897	1.529	6	0,39	1922	754	0	0,00
1898	1.465	3	0,20	1923	727	0	0,00
1899	1.614	4	0,25	1924	764	1	0,14
1900	1.420	4	0,28	1925	782	0	0,00
1901	1.321	5	0,38	1926	634	0	0,00
1902	1.005	2	0,18	1927	639	0	0,00
1903	628	2	0,32	1928	671	0	0,00
1904	755	3	0,39	1929	542	0	0,00
1905	721	3	0,41	1930	589	0	0,00
1906	772	1	0,13	1931	531	0	0,00
1907	786	3	0,38	1932	561	0	0,00
1908	524	1	0,19	1933	443	0	0,00
1909	467	1	0,21	1934	496	0	0,00
1910	401	0	0,00	1935	510	0	0,00

11° Mesures prises en vue de poursuivre l'évolution des cas traités pendant six mois au minimum.

Les médecins et les vétérinaires, ayant adressé des personnes mordues, sont priés de nous tenir au courant des accidents qui pourraient se produire ultérieurement.

12° Accidents paralytiques : Néant.

13° Décès : Néant.

La statistique pour 1935 s'établit donc ainsi :

Personnes traitées . . . . .	510
Mort. . . . .	0
Mortalité p. 100 . . . . .	0

# TABLE DES MATIÈRES

## DU TOME 56

### JANVIER

Observations à propos des apports atmosphériques de soufre combiné aux terres arables, par Gabriel BERTRAND . . . . .	5
L'eau lourde a-t-elle une action sur les bactéries? par DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et Étienne ROUX . . . . .	10
La réaction de Bordet-Wassermann dans le sérum débarrassé de la fraction précipitable par l'acide chlorhydrique, par Ch. AUGUSTE. Sur la vitalité du BCG dans l'organisme vacciné, par J. ZEYLAND et M <sup>me</sup> PIASECKA-ZEYLAND. . . . .	17
Titrage des sérums antipneumococciques des types I et II par la réaction de précipitation spécifique, par L.-K. VIKTOROF, L.-A. GUINTEZ-VERNER et M.-W. DEMIDOVA. . . . .	46
Analyse des récepteurs du vibron cholérique et du vibron El Tor, par R.-Th. SCHOLTENS . . . . .	52
Étude expérimentale des propriétés antigènes de l'anavaccin antityphique, par N.-N. SPASSKY et L.-A. DANENFELD. . . . .	68
Étude <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> sur le sort de la toxine tétanique dans le tube digestif, par Robert RÉGAMEY . . . . .	76
Études sur la faune des protozoaires de quelques sols du Sahara et des Hauts-Plateaux algériens, par L. VARGA. . . . .	87
	101

### FÉVRIER

L'épithélioma intracutané du lapin et son pouvoir immunisant, par A. BESREDKA, I. MAGAT, P. LAVAL et P. BESNARD . . . . .	125
Recherches sur le phénomène de Twort-d'Hérelle [bactériophagie ou autolyse herédo-contagieuse (quatrième mémoire), par E. WOLLMAN et M <sup>me</sup> E. WOLLMAN . . . . .	137
Appendice. — Remarques sur une propriété commune aux gènes, aux principes lysogènes et aux virus des mosaïques, par André LWOFF . . . . .	165
Recherches sur les antigènes des venins et les anticorps des sérums antivenimeux (deuxième mémoire), venin de <i>Cerastes cornutus</i> et sérums antivipérins <i>C. cornutus</i> , par E. CÉSARI et Paul BOQUET. . . . .	171
Synergie d'anticorps par « déviation hiérarchique », par G. PICADO . . . . .	186



## TABLE DES MATIÈRES

723

Anticorps spécifiques de la maladie de Weil dans l'urine, par M.-J. VAN DER HEDEN. . . . .	206
Errata. . . . .	220

## MARS

Études sur la microbiologie du sol ( <i>huitième mémoire</i> ). Recherches sur les bactéries radicales des légumineuses, par S. WINOGRADSKY, en collaboration avec Hélène WINOGRADSKY. . . . .	221
Recherches expérimentales sur la syphilis ( <i>deuxième mémoire</i> ). Variations de l'activité pathogène et cycle évolutif du virus syphilitique, par C. LEVADITI, A. VAISMAN et M <sup>lles</sup> R. SCHÆN et Y. MANIN, en collaboration avec M. PAÏC, P. HABER et N. CONSTANTINESCO . .	251
La libération du bactériophage contenu dans les bactéries dites « lysogènes », par André GRATIA. . . . .	307
A propos du mémoire de M. A. GRATIA, « la libération du bactériophage contenu dans les bactéries dites lysogènes », par E. WOLLMAN. . . . .	316
Contribution à l'étude de l'allergie ( <i>premier mémoire</i> ). L'allergie non spécifique, par Paul BORDET. . . . .	325

## AVRIL

† M. Charles NICOLLE (1866-1936) . . . . .	353
La viscosité des mélanges toxine-antitoxine diphtérique, par P. LECOMTE DU NOÛY et V. HAMON. . . . .	359
Cycle évolutif d'un <i>Hepatozoon</i> de <i>Gecko verticillatus</i> , par L.-A. ROBIN. Note sur deux cas de maladie d'Aujeszky observés en France, par L. CRUVEILHIER, C. TRUCHE et C. VIALA . . . . .	376
De l'isolement des anticorps par fixation à un système adsorbant-antigène et dissociation consécutive, par Kurt MEYER et André PIC. . . . .	395
Action de la vitamine C sur la toxine diphtérique et sensibilité du bacille de la coqueluche vis-à-vis de l'hydroquinol et de la vitamine C, par M <sup>lle</sup> O. GROOTEN et N. BEZSSONOFF. . . . .	401
Sur la relation entre le pouvoir antitoxique, le nombre de division de « L+ » et le coefficient de dilution du sérum antidiphtérique, par Matao SUEMATSU. . . . .	413
Les processus dystrophiques au cours de l'introduction de différents irritants dans les branches périphériques du nerf trijumeau, par P.-N. KARTACHOW . . . . .	427
Sur les phénomènes de dissociation et de lyse observés dans les cultures de l' <i>Actinomyces bovis</i> Bostroem. Essais d'application des filtrats de cultures lysées au traitement de l'actinomycose, par S. DMITRIEFF et G. SOUJÉEFF . . . . .	452
Essais de sensibilisation anaphylactique du spermophile ( <i>Spermophilus citellus</i> Wagn.), par B.-G. VEINBERG, C. F. GRJANKO et E.-J. BROUTMAN . . . . .	470
	477

## MAI

Recherches expérimentales sur la syphilis. Étude pathogénique de la neurosyphilis ( <i>troisième mémoire</i> ), par C. LEVADITI, A. VAISMAN et M <sup>lle</sup> R. SCHEN . . . . .	481
Recherches sur les antigènes des venins et les anticorps des sérums antivenimeux ( <i>troisième mémoire</i> ), venins de <i>Naja tripudians</i> et sérum anticobraïque, par E. CÉSARI et Paul BOQUET . . . . .	511
Le rôle de la saponine dans la vaccination anticharbonneuse glucosidée, par le Dr P. HOMUTOV . . . . .	535
La méthode de l'infection dosée dans l'étude de la biologie de la pébrine, par E. POYARKOFF . . . . .	584
Etat réactionnel du poumon au cours de diverses immunisations pratiquées par voie sous-cutanée, par P. de BOISSEZON . . . . .	597

## JUIN

Pouvoir prémunisant antituberculeux des bacilles tuberculeux à colonies lisses, par L. NÈGRE, J. VALTIS et J. BRETEY . . . . .	609
La maladie de Bang en Yougoslavie chez l'homme, par le professeur Tih. SIMITCH et Dr M. DJOURICHITCH . . . . .	620
De la coloration des cils bactériens par un procédé simple, par Serge LEVENSON . . . . .	634
Teneurs comparatives en soufre et en phosphore de plantes cultivées sur le même sol, par G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN . . . .	644
Immunisation contre la diphtérie par une seule injection d'anatoxine précipitée, par B. PALANT, Anna GORDINE et M. MITELMAN .	648
Essai d'immunisation antipneumococcique par inhalation, par J.-P. EXCHAQUET . . . . .	668
Sur des anticorps à affinités multiples, par Kurt MEYER . . . . .	684
Rôle du système nerveux dans l'immunité. Irritation conditionnelle, inhibition conditionnelle et leucocytose, par D.-A. SCHAMBOUROFF et O.-P. BELIKOWA . . . . .	700
Analyse des récepteurs du vibron cholérique, par R.-Th. SCHOLTENS .	710
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1935, par J. VIALA . . . . .	717

# TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 56

AUGUSTE (Ch.) . . . . .	La réaction de Bordet-Wassermann dans le sérum débarrassé de la fraction précipitable par l'acide chlorhydrique. . . . .	17
BELIKOWA (O. P.) . . . . .	Voir Schambouroff (D. A.).	
BERTRAND (Gabriel.) . . . . .	Observations à propos des apports atmosphériques de soufre combiné aux terres arables. . . . .	5
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (L.) . . . . .	Teneurs comparatives en soufre et en phosphore de plantes cultivées sur le même sol. . . . .	644
BESNARD (P.) . . . . .	Voir Besredka (A.).	
BESREDKA (A.), MAGAT (I.), LAVAL (P.) et BESNARD (P.).	L'épithélioma intracutané du lapin et son pouvoir immunisant. . . . .	125
BEZSSONOFF (N.) . . . . .	Voir Grooten (M <sup>lle</sup> O.).	
BOISSEZON (P. de) . . . . .	État réactionnel du poumon au cours de diverses immunisations pratiquées par voie sous-cutanée . . . . .	597
BOQUET (Paul) . . . . .	Voir Césari (E.).	
BORDET (Paul) . . . . .	Contribution à l'étude de l'allergie ( <i>premier mémoire</i> ). L'allergie non spécifique. . . . .	325
BRETEY (J.) . . . . .	Voir Nègre (L.).	
BROUTMAN (E. J.) . . . . .	Voir Veinberg (B. G.).	
CÉSARI (E.) et BOQUET (Paul).	Recherches sur les antigènes des venins et les anticorps des sérums antivenimeux ( <i>deuxième mémoire</i> ), venin de <i>Cerastes cornutus</i> et sérums antivipérins <i>C. cornutus</i> . . . . .	171
—	Recherches sur les antigènes des venins et les anticorps des sérums antivenimeux ( <i>troisième mémoire</i> ), venins de <i>Naja tripudians</i> et sérum anticobraïque . . . . .	511
CONSTANTINESCO (N.) . . . . .	Voir Levaditi (C.).	
CRUVEILHIER (L.), TRUCHE (C.) et VIALA (C.) . . . . .	Note sur deux cas de maladie d'Aujeszky observés en France . . . . .	395

DANENFELD (L. A.) . . . . .	Voir Spassky (N. N.).	
DEMIDOVA (M. W.) . . . . .	Voir Viktorof (L. K.).	
DJOURICHITCH (Dr M.) . . . . .	Voir Simitch (Tih.).	
DMITRIEFF (S.) et SOUTÉEFF (G) . . . . .	Sur les phénomènes de dissociation et de lyse observés dans les cultures de l' <i>Actinomyces bovis</i> Bostroem. Es- sais d'application des filtrats de cul- tures lysées au traitement de l'acti- nomycose. . . . .	470
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et ROUX (Et.) . . . . .	L'eau lourde a-t-elle une action sur les bactéries? . . . . .	40
EXCHAQUET (J. P.) . . . . .	Essai d'immunisation antipneumococ- cique par inhalation. . . . .	668
GORDINE (Anna) . . . . .	Voir Palaut (B.).	
GRATIA (André) . . . . .	La libération du bactériophage contenu dans les bactéries dites « lisogènes ». . . . .	307
GRJANKO (C. F.) . . . . .	Voir Veinberg (B. G.).	
GROOTEN (M <sup>lle</sup> O.) et BEZSSO- NOFF (N.) . . . . .	Action de la vitamine C sur la toxine diphthérique et sensibilité du bacille de la coqueluche vis-à-vis de l'hydro- quinol et de la vitamine C . . . . .	443
GUINZLE-VERNER (L. A.) . . . . .	Voir Viktorof (L. K.).	
HABER (P.) . . . . .	Voir Levaditi (C.).	
HAMON (V.) . . . . .	Voir Lecomte du Noüy (P.).	
HEDEN (M. J. van der) . . . . .	Anticorps spécifiques de la maladie de Weil dans l'urine . . . . .	206
HOMUTOV (Dr P.) . . . . .	Le rôle de la saponine dans la vaccina- tion anticharbonneuse glucosidée . . . . .	535
KARTACHOW (P. N.) . . . . .	Les processus dystrophiques au cours de l'introduction de différents irri- tants dans les branches périphériques du nerf trijumeau. . . . .	452
LAVAL (P.) . . . . .	Voir Besredka (A.).	
LECOMTE DU NOÛY (P.) et HA- MON (V.) . . . . .	La viscosité des mélanges toxine-anti- toxine diphthérique. . . . .	359
LEVADITI (C.), VAISMAN (A.), SCHÖEN (M <sup>lle</sup> R.) et MANIN (M <sup>lle</sup> Y.), en collaboration avec PAÏC (M.), HABER (P.) et CONSTANTINESCO (N.) . . . . .	Recherches expérimentales sur la sy- philis (deuxième mémoire). Variations de l'activité pathogène et cycle évo- lutif du virus syphilitique . . . . .	254



LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et SCHÖEN (M <sup>lle</sup> R.) . . . .	Recherches expérimentales sur la syphilis. Étude pathogénique de la neuro-syphilis ( <i>troisième mémoire</i> ). . . . .	481
LEVENSON (Serge) . . . . .	De la coloration des cils bactériens par un procédé simple. . . . .	634
LWOFF (André) . . . . .	Appendice. — Remarque sur une propriété commune aux gènes, aux principes lysogènes et aux virus des mosaïques. . . . .	165
MAGAT (I.) . . . . .	Voir Besredka (A.).	
MANIN (M <sup>lle</sup> Y.) . . . . .	Voir Levaditi (C.).	
MEYER (Kurt) . . . . .	Sur des anticorps à affinités multiples. . . . .	684
MEYER (Kurt) et PIC (André). . . . .	De l'isolement des anticorps par fixation à un système adsorbant-antigène et dissociation consécutive. . . . .	401
MITELMAN (M.) . . . . .	Voir Palant (B.).	
NÈGRE (L.), VALTIS (J.) et BRETEY (J.) . . . . .	Pouvoir immunisant antituberculeux des bacilles tuberculeux à colonies lisses. . . . .	609
† NICOLLE (M. Charles) . . . .	(1866-1936) . . . . .	353
PAÏC (M.) . . . . .	Voir (Levaditi C.).	
PALANT (B.), GORDINE (Anna) et MITELMAN (M.) . . . . .	Immunisation contre la diphtérie par une seule injection d'anatoxine pré-cipitée . . . . .	648
PIASECKA-ZEYLAND (M <sup>me</sup> ) . . .	Voir Zeyland (J.).	
PIC (André). . . . .	Voir Meyer (Kurt).	
PICADO (C.) . . . . .	Synergie d'anticorps par « déviation hiérarchique » . . . . .	186
POYARKOFF (E.) . . . . .	La méthode de l'infection dosée dans l'étude de la biologie de la pébrine. . . . .	584
REGAMEY (Robert) . . . . .	Étude <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> sur le sort de la toxine tétanique dans le tube digestif. . . . .	87
ROBIN (L.-A.) . . . . .	Cycle évolutif d'un <i>Hepatozoon</i> de <i>Gecko verticillatus</i> . . . . .	376
ROUX (Étienne) . . . . .	Voir Dujarric de La Rivière.	
SCHAMBOUROFF (D. A.) et BE- LIKOWA (O. P.) . . . . .	Rôle du système nerveux dans l'immunité. Irritation conditionnelle, inhibition conditionnelle et leucocytose. . . . .	700
SCHÖEN (M <sup>lle</sup> R.) . . . . .	Voir Levaditi (C.).	
SCHOLTENS (T.-Th.) . . . . .	Analyse des récepteurs du vibron cholérique et du vibron El Tor . . . . .	68
— . . . . .	Analyse des récepteurs du vibron cholérique . . . . .	710

SILBERSTEIN (L.) . . . . .	Voir Bertrand (G.).	
SIMITCH (Tih.) et DJOURICHITCH (D <sup>r</sup> M.) . . . . .	La maladie de Bang en Yougoslavie chez l'homme . . . . .	620
SOUTÉEFF (G.) . . . . .	Voir Dmitrieff (S.).	
SPASSKY (N.-N.) et DANENFELD (L.-A.) . . . . .	Étude expérimentale des propriétés an- tigènes de l'anavaccin antityphique. . . . .	76
SUEMATSU (Matao) . . . . .	Sur la relation entre le pouvoir anti- toxique, le nombre de division « L <sub>+</sub> » et le coefficient de dilution du sérum antidiphthérique . . . . .	427
TRUCHE (C.) . . . . .	Voir Cruveilhier (L.).	
VAISMAN (A.) . . . . .	Voir Levaditi (C.).	
VALTIS (J.) . . . . .	Voir Nègre (L.).	
VARGA (L.) . . . . .	Études sur la faune des protozoaires de quelques sols du Sahara et des Hauts-Plateaux algériens. . . . .	101
VEINBERG (B. G.), GRJANKO (C. F.) et BROUTMAN (E. J.).	Essais de sensibilisation anaphylac- tique du spermophile ( <i>Spermophilus</i> <i>citellus</i> Wagn.). . . . .	477
VIALA (C.) . . . . .	Voir Cruveilhier (L.).	
VIALA (J.) . . . . .	Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1933 . . . . .	717
VIKTOROF (L. K.), GUINZTE- VERNER (L. A.) et DEMIDOVA (M. W.) . . . . .	Titrage des sérums antipneumococ- ciques des types I et II par la réac- tion de précipitation spécifique. . . . .	52
WINOGRADSKY (S.), en colla- boration avec WINOGRAD- SKY (Hélène) . . . . .	Études sur la microbiologie du sol (huitième mémoire). Recherches sur les bactéries radicales des légumi- neuses . . . . .	221
WOLLMAN (E.) . . . . .	A propos du mémoire de M. A. Gratia « La libération du bactériophage con- tenu dans les bactéries dites lyso- gènes ». . . . .	316
WOLLMAN (E.) et WOLLMAN (M <sup>me</sup> E.) . . . . .	Recherches sur le phénomène de Twort- d'Hérelle [bactériophagie ou autolyse héréditaire-contagieuse] (quatrième mé- moire) . . . . .	137
ZEYLAND (J.) et PIASECKA-ZEY- LAND (M <sup>me</sup> ) . . . . .	Sur la vitalité du BCG dans l'organisme vacciné. . . . .	46

Le Gérant : G. MASSON.



